

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. E. Weinig

**Der gerichtsmedizinische Nachweis
des Seifenaborts
und der Seifenintoxikation**

Der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu Erlangen

als Habilitationsschrift

23. Juli 1957

vorgelegt von

Dr. med. Wolfgang Schwerd

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität
Erlangen (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. WEINIG)

Der gerichtsmedizinische Nachweis des Seifenaborts und der Seifenintoxikation*

Von

WOLFGANG SCHWERD

Mit 3 Textabbildungen (davon 2 farbige)

(Eingegangen am 13. März 1958)



* Auszugsweise auf dem Kongreß der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in Heidelberg 1957 vorgetragen.

Die Verwendung von Seife als Abortivum wurde nach LEWIN zuerst von GALEN erwähnt. Das Mittel wurde früher offenbar nur per os angewendet; seit vielen Jahrzehnten — vermutlich seit der antiseptischen Ära in der 2. Hälfte des vorigen Jahrhunderts, in der differente Uterusspülungen zu Desinfektionszwecken aufkamen [vgl. KÜSTNER und FRITSCH (1878)] — hat die Einspritzung von Seifenwasser in die schwangere Gebärmutter als Fruchtabtreibungsmittel Verbreitung gefunden. PUPPE (1) erwähnte sie bereits 1905 als häufige Maßnahme zur Schwangerschaftsunterbrechung. Berichte über Komplikationen nach Seifen-spülungen der Gebärmutter sind dagegen erst seit etwa 35 Jahren in der Literatur zu finden. Dies ist wohl nicht darauf zurückzuführen, daß früher diese Eingriffe komplikationslos verliefen, sondern vielmehr darauf, daß derartige Zwischenfälle nicht als Folgen einer Seifeneinwirkung auf den menschlichen Organismus erkannt werden konnten, weil die toxischen Wirkungen der Seife noch nicht genügend bekannt waren. Die hämolytische Wirkung der Seife wurde beispielsweise erst 1906 von NOGUCHI entdeckt. Ein Erkennen der Seifenvergiftung als eigenes Krankheitsbild war auch deswegen erschwert, weil es in akuten Fällen sehr weitgehend dem der Luftembolie ähnelt und bei protrahiertem Verlauf durch sekundäre Infektionen meist verwischt wird.

Alle Autoren, die die Frage nach der Häufigkeit von Abtreibungsmethoden aufwarfen, sind sich darin einig, daß die *Spülung mit Seifenwasser seit Jahrzehnten die gebräuchlichste Methode* ist (BEAUFAYS, BOCK u. HEITER, DECH, ERDLÉ, HAEFELI, HASELHORST, HASELHORST u. SCHALTENBRAND, HEITER, HELLER, KAYSER, KOENEN, KRAUS, LEWIN (S. 306), MOELL, POLANO, SCHOLZ, TILCHER). Seife wurde ja sogar als wesentlicher Bestandteil von Pasten — die bekannteste von ihnen hatte den Namen „Interruptin“ — Anfang der 30er Jahre dieses Jahrhunderts zur Schwangerschaftsunterbrechung durch Ärzte benutzt und zunächst selbst von maßgebenden Gynäkologen (z. B. SELLHEIM, zit. nach K. OTTO) empfohlen, in Deutschland bald aber wegen zahlreicher schwerer Komplikationen mit Todesfolgen ver-

worfen (vgl. MÜLLER-HESS u. HALLERMANN). Im Ausland werden dagegen noch jetzt vereinzelt sowohl Pasten als auch Seifenlösungen zur legalen Schwangerschaftsunterbrechung verwendet (vgl. WILLIAMS, ORAM). In Laienkreisen ist die Seifenwassereinspritzung auch bei uns noch immer das gebräuchlichste Abtreibungsmittel, wie die Publikationen aus jüngster Zeit zeigen (vgl. z. B. HASELHORST 1948; BOCK u. HEITER 1948; KAYSER 1951; KRAUS 1953, 1954; PUDER 1956; NAUJOKS 1957). KAYSER berichtet, daß 1949/50 unter den provozierten Aborten, die in der Kieler Universitäts-Frauenklinik behandelt wurden, in 77 % der Fälle Seifeninstillationen vorausgegangen sind (vgl. auch SCHULTZ).

Wir können die allgemeine Ansicht, daß die Seifenwassereinspritzung in die schwangere Gebärmutter zu den häufigsten Abtreibungsmaßnahmen durch Laien gehört, vollauf bestätigen. Sie ist auch bei den in unserem Institut seit 1948 beobachteten Todesfällen nach Schwangerschaftsunterbrechung am meisten vertreten.

Bei der Durchsicht der umfangreichen einschlägigen Literatur zeigte sich nun, daß der sichere Nachweis einer vorangegangenen Seifeninstillation oft nicht erbracht werden konnte. Als Beispiel seien nur 3 von KRAUS beschriebene Fälle von Seifenwassereinspritzungen bei Frauen erwähnt, die sofort bzw. nach $1\frac{1}{2}$ Std bzw. nach 2 Tagen verstarben, ohne daß der Obduzent die Todesursache feststellen konnte. Er hatte in allen 3 Fällen nicht einmal einen sicheren Anhalt dafür, daß ein Eingriff vorangegangen war! Solche krassen Fälle sind zwar sicher nicht alltäglich, doch kann es keinem ernstlichen Zweifel unterliegen, daß die Diagnostik des Seifenaborts und der Seifenintoxikation besonders dann, wenn der Eingriff schon Tage zurückliegt, erheblichen Schwierigkeiten begegnen kann. Die Patientinnen sind aus Furcht vor Strafe meist auch nicht bereit, einen Eingriff als solchen und dessen Art zuzugeben, und ebensowenig ist nach deren Tode zu erwarten, daß die Angehörigen — sofern sie überhaupt davon wissen — sachdienliche Mitteilungen machen.

Da in der Literatur zusammenfassende Darstellungen über die Nachweisbarkeit von Seifenabort und Seifenintoxikation fehlen, haben wir unter Berücksichtigung der einschlägigen Arbeiten und unserer Erfahrungen bei der Bearbeitung von 31 Todesfällen nach Seifenwassereinspritzung in die schwangere Gebärmutter die bisher üblichen Methoden eingehend geprüft und neue Nachweismöglichkeiten ausgearbeitet.

Die Begriffe „Seifenabort“ und „Seifenintoxikation“

Unter dem Begriff „Seifenabort“ sind alle diejenigen Fälle von Schwangerschaftsunterbrechung zu verstehen, die durch direkte Einwirkung der Seife auf die schwangere Gebärmutter zustande kommen. Dieser Ausdruck wurde weder von HEITER, der ihn 1949 erstmals verwendete, noch von den Autoren, die ihn übernahmen (SCHOLZ 1952; DECH 1952; HAEFELI 1953; KRAUS 1953; 1954, WEINERT 1954) wortgetreu verwendet. Es wurden nämlich nicht nur die einfachen Seifenaborte, sondern auch die durch den Einbruch von Seifenwasser in die

Blutbahn komplizierten Fälle damit bezeichnet. Hierfür ist jedoch der Ausdruck „Seifenvergiftung“ (HASELHORST) bzw. „Seifenintoxikation“ (HASELHORST u. SCHALTENBRAND, HELLER, DIECKE, RIES) treffender. Der Ausdruck „Seifensepsis“ (GÖSSLER 1951) ist ungeeignet, weil die verwendeten Seifenlösungen wegen der bactericiden Eigenschaften der Seife und, weil sie obendrein meist vor der Einspritzung abgekocht werden, im allgemeinen steril sind. Wenn sich eine Sepsis entwickelt, so handelt es sich um eine sekundäre Infektion.

Symptomatik

Beim einfachen Seifenabort kommt es zu einer „lokalen“ Schädigung der Gebärmutter Schleimhaut und der Frucht. Durch gleichzeitige Reizwirkung auf die Uterusmuskulatur setzen Wehen ein und die Frucht wird ausgestoßen. Komplikationen ergeben sich (vgl. HASELHORST u. a.):

1. wenn eine tiefergreifende Schädigung des Fruchthalters zustande kommt [Alkalinekröse (RUNGE)];

2. wenn die Seifenlösung an der Fruchtanlage vorbei in die Tube und weiter in die freie Bauchhöhle gelangt. Hierdurch entstehen auf Ätzung beruhende, zunächst abakterielle, später häufig infizierte Salpingitiden, Adnexitiden und Peritonitiden;

3. wenn nach Verletzungen der Scheide, der Cervix oder des Uterus die Flüssigkeit in das parametran Gewebe gelangt, so entwickelt sich eine nekrotisierende Parametritis;

4. wenn die Seifenlösung über die intervillösen Räume oder bei Verletzungen des Uterus über die Wandgefäße in die Blutbahn eindringt, dann kommt es zur „Seifenintoxikation“.

Der einfache, unkomplizierte Seifenabort unterscheidet sich nicht von den durch andere Maßnahmen provozierten Aborten oder von Spontanaborten (DIECKE).

Bei den lokalisierten Komplikationen (Salpingitis, Adnexitis, Peritonitis, Parametritis) bleiben mitunter, solange eine bakterielle Beteiligung fehlt, trotz schwerster lokaler Veränderungen Puls und Temperatur im Bereich der Norm. Auch zwischen dem lokalen Tastbefund und den subjektiven Beschwerden besteht oft eine erhebliche Diskrepanz (POLANO).

Das Krankheitsbild der *Seifenintoxikation*, d. h. der Allgemeinschädigung des Organismus durch Seife, wurde vor allem von BOCK u. HEITER 1948, HASELHORST 1948 und HEITER 1949 herausgearbeitet. Die Erkrankung setzt meist schlagartig während oder bald nach der Abtreibungshandlung ein. Das klinische Bild hängt in erster Linie von der Quantität und der Konzentration der in die Blutbahn eingedrungenen Seifenlösung und davon ab, mit welcher Geschwindigkeit sie einströmt. Während in leichten Fällen eine geringe Hämoglobinurie das einzige Symptom sein kann, verlaufen schwerste Fälle mitunter so foudroyant, daß innerhalb weniger Minuten der Tod eintritt. Sie ähneln im klinischen Verlauf weitgehend der Luftembolie, mit der sie manchmal kombiniert sind. Zwischen diesen Extremfällen liegt die „typische Seifenintoxikation“. Sie ist zunächst durch die Einwirkung der Seife auf das Blut und die Gefäßendothelien gekennzeichnet. Es tritt eine akute Hämolyse ein, der Blutdruck fällt ab, vielfach wird die Patientin schlagartig bewußtlos, und außerdem sind oft Erbrechen, Durchfälle, Fieber, Schüttelfröste und besonders Krämpfe zu beobachten. Die Hämolyse bedingt das Überreten von Blutfarbstoff in den Urin. Ferner kommen außerordentlich häufig (manchmal nach kurz dauernder Besserung des Befindens) ernste Nierenschädi-

gungen zustande, die zur Urämie führen. Wegen gleichzeitiger Vasomotoren-lähmungen (die als Alkaliwirkung gedeutet werden) kann die sonst bei der akuten Urämie vorhandene Blutdrucksteigerung fehlen. Trotz dieser ersten Komplikation sollen sich die Frauen oft selbst von schweren Seifenintoxikationen wieder völlig erholt haben (HETTER). Nach einer Seifenintoxikation bleibt stets eine mehr oder minder schwere *Anämie* zurück, die aber ebenfalls eine gute Heilungstendenz aufweisen soll.

Pathologisch-anatomische Befunde

Die Schädigungen an den *Genitalorganen* werden von Konzentration und Temperatur der Seifenlösung mit bestimmt. Die *Scheidenschleimhaut* wird natürlich erst durch stärkere Konzentrationen angegriffen. Einen eindrucksvollen Fall beschrieb DIERKS. Nach Scheidenspülungen mit einer sehr starken, heißen Persil-lösung (Persil enthält 72% Kernseife, 15,5% Soda, 10% Perborat und 2% Wasserglas), die in wöchentlichen Abständen 2 $\frac{1}{2}$ Monate lang durchgeführt wurden, war es zu einer umschriebenen Verätzung der vorderen Scheidenwand gekommen, die allerdings rasch wieder abheilte. Auch nach Anwendung von reiner Seifenlösung wurden Schädigungen der Vaginalschleimhaut beobachtet (vgl. z. B. LEWIN, S. 307). Schwerste Verätzungen der Vaginalwand und der Portio nach längerer Anwendung von reiner Kernseife zur Konzeptionsverhütung beschrieb GÖSSLER.

Über Schädigungen von *Uterus und Adnexen* nach Seifeninstillationen berichtete wohl zuerst KOENEN (1923). Lokale Veränderungen an den inneren Genitalien standen ähnlich wie bei den Fällen von SCHWAB, POLANO und BRAUN im Vordergrund. Auch die Fälle von TOSETTI (Salmiakgeistlösung), WEMMER (Seife ?) und GEPPERT (Lysoleifenlösung) gehören hierher. Am bekanntesten ist der von RUNGE mitgeteilte Fall schwerster Nekrose des Myometriums, die er als „Alkalinektrose“ bezeichnete, weil er das bei der Dissoziation der Seife frei werdende Alkali als entscheidenden Faktor ansah. Die gleiche Meinung vertrat BICKENBACH, während TILCHER und später auch RUNGE u. HARTMANN annahmen, daß die Seife wenigstens zunächst als Molekül wirksam sei.

Wir hatten in den letzten Jahren Gelegenheit, 31 Todesfälle nach Seifenwassereinspritzung zu bearbeiten. In Übereinstimmung mit anderen Autoren beobachteten wir im Bereich des Myometriums vor allem folgende Veränderungen: 1. Nekrosen, 2. stark dilatierte Gefäße mit Thrombosen, 3. Blutaustritte (häufig mit Zeichen der Hämolyse) und 4. entzündliche Veränderungen. Diese krankhaften Veränderungen sind nicht gleichmäßig über den Uterus verteilt, sie finden sich vielmehr vorwiegend im Bereich der Placentarhaftstelle, die als solche meist auch noch Tage nach der Ausstoßung der Placenta zu erkennen ist. Die Nekrosen sind teils streifenförmig in den schleimhautnahen Schichten des Myometriums zu finden, teils durchsetzen sie infarktartig die gesamte Uteruswand. Bei der histologischen Untersuchung ist auffallend, daß sich auch die elastischen Fasern nur schwach anfärben lassen und verquollen erscheinen (TILCHER). Dies gilt besonders für die Gefäßwände. Das Bindegewebe der Umgebung der Nekrosen ist ödematös durchtränkt. Im Laufe weniger Tage bilden sich an der Grenze der nekrotischen Bezirke leukocytaire Demarkationswälle aus.

Ablagerungen fettfärbbarer Stoffe nach Seifeneinwirkung

Unter den histologischen Befunden bedürfen Ablagerungen fettfärbbarer Stoffe im Myometrium einer besonderen Besprechung. Sie wurden 1951 von WEINIG u. SCHWERD erstmals beschrieben und 1954 von PETERSOHN bestätigt¹. Es handelt sich um verschieden große Tropfen, die mit den üblichen Fettfarbstoffen positiv reagieren und vor allem innerhalb von Blut- und Lymphgefäßen sowie in deren Umgebung zu

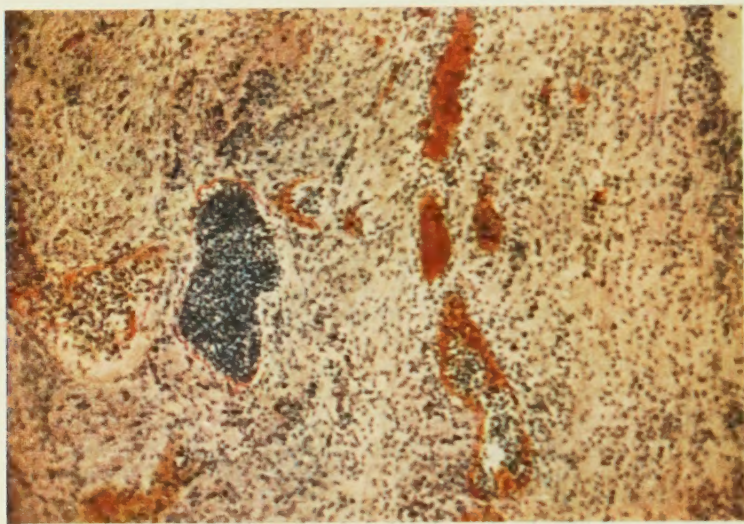


Abb. 1. Fettablagerungen innerhalb von Blutgefäßen in einem verquollenen, z. T. nekrotischen und von Leukozyten durchsetzten Gewebsbezirk des Myometriums. (Zustand nach Seifenabort im 2. Schwangerschaftsmonat.) Hämatoxilin-Sudan III-Färbung

finden sind (vgl. Abb. 1). Derartige Befunde waren schon bei akuten Todesfällen (Luftembolie) zu erheben. Ihre Intensität verstärkte sich jedoch im allgemeinen mit zunehmendem zeitlichem Intervall zwischen Eingriff und Tod. Auffallenderweise waren Verfettungen der Muskelzellen selten und nur in Fällen vorhanden, bei denen der Eingriff bereits längere Zeit vor dem Tod erfolgte.

Die Herkunft dieser Stoffe war bisher nicht ganz klar. Es war 1. daran zu denken, daß es sich um Fettspuren aus den Seifenlösungen (da die Seifen meist nicht ganz fettfrei sind) plus Fettsäure (bzw. Seife) handelt, und 2. war damit zu rechnen, daß es nach Seifenwassereinspritzungen zu einer Fettsynthese aus Seife kommt. Eine wichtige Stütze

¹ *Anmerkung.* Nach Anwendung seifenhaltiger Pasten wurden mehrmals Fettablagerungen im Uterus und den inneren Organen beschrieben (FINGERLAND, FRANKEN, BRACK, BORST). Da die Pasten meist beträchtliche Fettmengen enthielten, gaben diese Befunde keinen Anlaß zu Überlegungen über ihre Herkunft. Lediglich BORST machte eine Andeutung über Fettbildung aus Seife.

für letztere Annahme war die Tatsache, daß die Fettablagerungen im allgemeinen um so stärker waren, je größer der zeitliche Abstand zwischen Eingriff und Tod war.

Die Abgrenzung der nach Seifeneinwirkung auftretenden fettfärbbaren Stoffe von physiologischen Verfettungen des Myometriums im Puerperium

Bei der Bewertung der Fettablagerungen nach Seifeneinwirkung war die Frage von besonderer Bedeutung, ob und in welchem Umfang im schwangeren Uterus und insbesondere während der Rückbildungsphase schon „normalerweise“ Fett auftritt. Nach STIEVE soll die Rückbildung des schwangeren Uterus mit einer fettigen Degeneration der während der Schwangerschaft neu gebildeten Muskelzellen (sog. Ersatz- bzw. Ergänzungsmuskelzellen) einhergehen. Seinen Beobachtungen nach tritt das Fett in den ersten Tagen des Puerperiums in diesen Muskelzellen um die Kerne herum in Form feinsten, später sich vergrößernder Tröpfchen auf, die den Zellen ein schaumiges Aussehen verleihen. Gleichzeitig soll es zur Verkleinerung der Kerne kommen, die schließlich durch Zerfall zugrunde gehen und verfettete Zelleichen zurücklassen. Auf welche Art und Weise das Fett letztlich hinweggeschafft wird, ist im Mikroskop nicht zu erkennen (STIEVE).

Zur Prüfung des „Normalfettgehaltes“ untersuchten wir insgesamt 74 Gebärmütter, davon 50 nichtschwangere, 11 schwangere und 13 postpartale bzw. puerperale Gebärmütter, bei denen vorangegangene Seifenwassereinspritzungen auszuschließen waren. Es waren Uteri von Frauen, die bei Verkehrsunfällen, durch Selbstmord, Erkrankungen verschiedener Art, Verbluten, Lungenembolie und Sepsis nach Abtreibungshandlungen (anderer Art) zu Tode gekommen sind. Unsere Befunde stimmten weitgehend mit denen STIEVES überein. In den nichtschwangeren Gebärmütern war nur in den Fällen Fett zu finden, die von Frauen jenseits des Klimakteriums stammten. Aber auch hier waren die Befunde recht spärlich. Meist waren es einzelne, wie Fettzellen aussehende Gebilde in den äußeren Wandschichten, daneben fettig degenerierte Muskel- und Gefäßwandzellen. Die nichtschwangeren Gebärmütter von Frauen im gebärfähigen Alter waren fettfrei. Auch bei normalen, nicht unterbrochenen Schwangerschaften waren im Uterus niemals nennenswerte Fettablagerungen zu finden, die zu Verwechslungen mit unseren Befunden nach Seifenwassereinspritzungen Anlaß hätten geben können. Selbst in den puerperalen Fällen waren meist nur geringfügige, erst mit stärkerer Vergrößerung erkennbare Fettablagerungen zu sehen. Nur in 2 der 13 Fälle waren die Befunde etwas stärker. Zum Unterschied von den Fällen nach Seifenwassereinbringung war aber die Verteilung des Fettes gleichmäßiger, insbesondere fehlte eine Bevorzugung der Gegend der Placentarhaftstelle. Ferner war ohne weiteres zu erkennen, daß es sich

im wesentlichen um zugrunde gehende bzw. gegangene Muskelzellen handelte. Lymph- und Blutgefäße waren fettfrei, und auch die anderen, auf eine vorangegangene Seifeneinwirkung hinweisenden Befunde wie Nekrosen, dilatierte Gefäße mit Thrombosen, Blutextravasate, ödematöse Verquellungen usw. fehlten. Es waren höchstens kleine lymphocytaire Infiltrate vorhanden.

Betrachtet man diese Befunde bei puerperalen Gebärmüttern, so gewinnt man nicht den Eindruck, daß die Involution über eine fettige Degeneration der während der Schwangerschaft neu gebildeten Elemente geht. Es scheint vielmehr so, als gingen nur einzelne dieser Zellen auf diese Weise zugrunde. Unsere Ansicht wird durch Beobachtungen von STEFANELLI bekräftigt, der Fett in den Myofibrillen weder während der Gravidität noch in irgendeiner Phase des Puerperiums fand. Übereinstimmend mit eigenen Befunden an puerperalen Gebärmüttern von Kaninchen, Meerschweinchen und Katzen sah er bei Hunden, Ratten und Katzen kein Fett im Myometrium des puerperalen Uterus.

*Zur Frage der Vortäuschung bzw. Veränderung der Ablagerungen
fettfärbbarer Stoffe durch Fäulnis*

Zahlreiche weitere Versuche führten wir im Hinblick darauf, daß uns manchmal nur Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht, das bereits Fäulnisveränderungen aufweist, zur Klärung der Frage durch, ob durch Autolyse und Fäulnis Befunde zustande kommen können, wie wir sie nach Seifeneinwirkung im Myometrium fanden, nämlich Ablagerungen von Stoffen, die die üblichen histologischen Neutralfettreaktionen ergeben. Bekanntlich nahm man früher an, daß die Autolyse unter dem Bild der fettigen Degeneration verläuft, jedoch wurde schon um die Jahrhundertwende von DIETRICH u. a. an anderen Organen nachgewiesen, daß diese Ansicht nicht richtig ist. Es waren zwar doppelbrechende Substanzen und sog. Myelinfiguren zu beobachten, mit Sudan färbbares Fett trat aber nicht auf. Zur Frage des Auftretens von Fett bei Fäulnis hat auch WALCHER ähnliche Untersuchungen durchgeführt und festgestellt, daß keine Anhaltspunkte hierfür gegeben sind. Wenn man in faulem Material Fetttropfchen fände, so sei das in den gleichen Geweben, in denen schon in frischem Zustand besonders häufig Fettablagerungen zu finden seien, wie z. B. in den Epithelien der Nierenrinde.

Wegen der gerichtsmedizinischen Bedeutung dieser Frage haben wir erneute Versuche durchgeführt, besonders aber auch deshalb, weil bisher noch keine entsprechenden Untersuchungen mit Uterusgewebe vorgenommen wurden. Hierzu haben wir 12 schwangere Gebärmütter bei Zimmertemperatur bis zur Strukturlosigkeit faulen lassen und in Abständen von wenigen Tagen histologisch untersucht. Die erhobenen Befunde unterschieden sich nicht wesentlich von denen, die wir bei der

Fäulnis anderer Organe zu sehen gewohnt sind; mit zunehmender Fäulnis läßt die Anfärbbarkeit der Gewebe nach, bis schließlich nur noch teilweise verflüssigte, von rundlichen Lückenbildungen (Fäulnisblasen) durchsetzte, strukturlose Gebilde zu erkennen sind. Das Auftreten von umschriebenen sudanfärbbaren Substanzen konnten wir nie beobachten. Von vornherein vorhandenes Fett widerstand im allgemeinen sehr lange der Fäulnis, war aber schließlich in den strukturlosen Gewebsschnitten nicht mehr zu lokalisieren. Meist nahm das Gewebe bei der Färbung mit Sudanfarbstoffen einen diffus rötlichen bis blaßorangeroten Farbton an, der vermutlich durch eine Freisetzung von „maskiert“ vorhandenem Fett bedingt war.

Somit kann gesagt werden, daß die Versuche keine Anhaltspunkte dafür ergeben haben, daß die von WEINIG u. SCHWERD beobachteten sudanpositiven Ablagerungen nach Seifenwassereinspritzung in die schwangere Gebärmutter auch durch Fäulnis zustande kommen können. Allerdings ist bei stärkerer *Lipämie* damit zu rechnen, daß postmortal eine Entmischung des Blutes und dadurch ähnliche Befunde auftreten können. Wir beobachteten etwas Entsprechendes in der faulen Lunge eines fettleibigen Mannes. Anhaltspunkte für eine Fettembolie waren nicht gegeben. Die Abgrenzung eines solchen Befundes von den Fettablagerungen nach Seifeneinwirkung ist jedoch nicht schwer. Bei der *Lipämie* ist nämlich das Auftreten fettfärbbarer Stoffe auf die Blutgefäße beschränkt, außerdem findet man eine ziemlich gleichmäßige Verteilung dieser Stoffe und die übrigen pathologisch-histologischen Charakteristika der Seifenschädigung der Gebärmutter fehlen (Ödem, dilatierte, teils thrombosierte Gefäße, Nekrosen, entzündliche Veränderungen).

Zur Frage der Fettsynthese im Gebärmuttermuskel nach Einspritzung von Seifenwasser

In weiteren Versuchen prüften wir die Frage nach der Art der fettfärbbaren Stoffe. Nachdem wir zunächst Untersuchungen über die Spezifität verschiedener Fettfärbemethoden durchgeführt hatten, kamen wir auf Grund unserer Erfahrungen zu der Überzeugung, daß diese Stoffe nicht bzw. nicht nur aus Seifen oder Fettsäuren, sondern mindestens z. T. aus Neutralfett bestehen. Hierfür sprach bereits ihre sehr intensive Anfärbbarkeit mit Sudan III und Scharlachrot. Wie nämlich schon FISCHLER 1903 feststellte, färben sich Seifen mit Sudan blasser als Fett an, und bei der Differenzierung mit 70%igem Alkohol verschwindet der Farbstoff fast vollständig wieder, während er sich in Fetten auch bei dieser Behandlung tagelang hält. Das Vorliegen reiner Seifen war damit bereits auszuschließen. Es war aber daran zu denken, daß die Anfärbung durch das Vorhandensein von freien Fettsäuren bedingt

war. Die gesättigten Fettsäuren reagieren (wenigstens bei Zimmertemperatur) nicht mit Sudanfarbstoffen, so daß nur noch ungesättigte Fettsäuren in Betracht kamen. Die handelsüblichen Seifen weisen aber Jodzahlen auf, die meist unter 60 liegen. Dies besagt, daß ihr Gehalt an ungesättigten Fettsäuren relativ gering ist. Da darüber hinaus die ungesättigten Fettsäuren nicht sehr intensiv mit Sudanfarbstoffen reagieren, kann die starke Sudanfarbbarkeit der Ablagerungen als Beweis dafür angesehen werden, daß sie Neutralfett enthalten. Allerdings bestanden sie nur selten aus reinem Neutralfett, wie der Ausfall der Nilblausulfatfärbung zeigte. Hier waren nämlich nur selten reine Rosafärbungen wie beim Vorliegen von Neutralfett, sondern überwiegend blaue bis violette Farbtöne zu erzielen. Nun ist die Blaufärbung, die Nilblausulfat mit Fettsäuren ergibt, ungleich viel stärker als die Rosafärbung mit Neutralfetten. Deshalb läßt der häufige Nachweis von Mischfarben (violett) den Rückschluß auf einen beträchtlichen Gehalt an Neutralfett zu. Auch der Ausfall der Fischlerschen Reaktion zum Nachweis von freier Fettsäure und von Seife erreichte in den fraglichen Fällen weder den Umfang noch die Intensität, wie sie beim Vorhandensein von reiner Fettsäure bzw. Seife zu erwarten gewesen wäre.

Unsere Versuche lassen somit den Schluß zu, daß nach Einwirkung von Seife auf die Gebärmutter im Myometrium Fett auftritt. Die nächste Frage war daher die nach der Herkunft des Fettes. Folgende Möglichkeiten waren in Erwägung zu ziehen: 1. daß es sich um ein eingeschlepptes Fett handelt, das von der Verwendung fetthaltiger Seifen herrührt, 2. daß infolge der Seifeneinwirkung maskiertes, körpereigenes Fett auftritt (Fettphanerose) und 3. daß die aus der Seife bei der hydrolytischen Spaltung frei werdenden Fettsäuren unter Mitwirkung körpereigenen und in den Seifen vorhandenen Glycerins und körpereigener Lipase zu Neutralfett synthetisiert werden.

Die 1. Frage, ob es sich um Fett handelt, das mit der Seife eingeschleppt wurde, war verhältnismäßig einfach zu beantworten: Spritzt man einem Kaninchen *absolut fettfreie Seifenlösung* in die schwangere Gebärmutter ein, so tritt im Myometrium histologisch erfaßbares Neutralfett auf. Das in den Seifen vorhandene ungespaltene Fett kann also für die genannten Befunde allein nicht verantwortlich gemacht werden. Es kann allenfalls ihr Zustandekommen unterstützen. Entsprechende Befunde hatte bereits ENGEL im Rahmen seiner Doktorarbeit im hiesigen Institut erhoben. Er verwendete allerdings eine nicht völlig fettfreie Seife (sapo medicatus mit 0.9% Fett), weshalb wir die Versuche mit fettfreier Seife wiederholten.

Gegen die 2. Möglichkeit, daß es sich um körpereigenes Fett handelt, spricht vor allem die Tatsache, daß sowohl das Uterusgewebe als auch das Blut sehr fettarm sind. Da Angaben über den Fettgehalt des Uterus-

muskels in der Literatur nicht zu finden waren, haben wir orientierende Gesamtfettbestimmungen an 5 nichtschwangeren und 2 schwangeren Gebärmüttern und Gesamtfettsäurebestimmungen an 29 nichtschwangeren (davon 16 von Frauen unter und 13 von Frauen über 40 Jahren) und 6 schwangeren Gebärmüttern durchgeführt. Den Fettgehalt bestimmten wir gravimetrisch nach Extraktion des mit dem Starmix zerkleinerten und mit Sand verriebenen Gewebes (vgl. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER V/461), den Fettsäuregehalt acidimetrisch nach Hydrolyse des Gewebes mit Lauge und Extraktion, in Anlehnung an das Verfahren von VAN DE KAMER u. Mitarb.

Die Ergebnisse waren folgende: Der Uterus wies einen mittleren Fettgehalt von 1% auf (0,35—1,38%). Der Fettsäuregehalt betrug bei den nichtschwangeren Gebärmüttern im Mittel 0,68% (0,37—0,91%), bei den schwangeren Gebärmüttern 0,56% (0,44—0,63%). Eine „Demaskierung“ dieser geringen Fettmenge unter der Einwirkung von Seife vermag somit die oft sehr intensiven Fettablagerungen nach Seifeneinspritzung in die schwangere Gebärmutter nicht zu erklären.

Anhaltspunkte dafür, daß der Fettgehalt des Uterus während der Schwangerschaft höher liegt als sonst, sind nicht gegeben. Denn unsere Fettsäurebestimmungen ergaben im Mittel bei schwangeren Gebärmüttern sogar einen etwas niedrigeren Wert als bei nichtschwangeren Organen.

Da besonders intensive Fettablagerungen häufig innerhalb von Blutgefäßen nachweisbar waren (Abb. 1), führten wir zur Prüfung der Frage, inwieweit die direkte Einwirkung von Seife auf das Blut zum Auftreten von sudanpositiven Stoffen führen kann, folgende Versuche durch: Wir versetzten frisch entnommenes Citratblut mit fettfreier 3%iger Seifenlösung (Natriumoleatlösung, p_H 8) in den Verhältnissen 1:1, 1:5, 1:10 und 1:25 und fertigten sowohl nach wenigen Minuten als auch nach mehrstündiger (bis zu 24stündiger) Aufbewahrung des Blutes im Brutschrank bei 37° C Ausstriche an, die nach dem Trocknen in der üblichen Weise mit Sudan III gefärbt wurden. In keinem Falle war das Auftreten von Fett zu beobachten, womit erwiesen sein dürfte, daß die Fettbefunde innerhalb der Blutgefäße nicht auf einer „Demaskierung“ im Blut bereits vorhandener, zunächst aber noch submikroskopisch gebundener Fette (bzw. Lipide) unter der Einwirkung von Seife beruht¹. Um die oft massiven Fettablagerungen in den Blutgefäßen als einen Demaskierungseffekt zu deuten, würde überdies der Fettgehalt des Blutes, der 0,5—0,75% beträgt (vgl. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER V),

¹ Anm.: Die Verhältnisse, unter denen FAZEKAS bei NaOH-Vergiftungen FetteMBOLIEN fand, waren andere. Die verwendeten NaOH-Mengen waren vergleichsweise viel größer als diejenigen, die aus den eingebrachten Seifen allenfalls abspaltbar sind und die Fettbefunde waren nicht lokalisiert.

nicht ausreichen, selbst dann nicht, wenn regelmäßig eine Steigerung des Fettgehaltes während der Schwangerschaft stattfinden würde, die nach HELLMUTH und EUFINGER bis zu 40% betragen kann. Diese würde aber auch nur eine Vermehrung des Blutfettes von 0.5—0.75% auf 0.7—1.05% bedeuten.

Somit bleiben zur Erklärung des Auftretens von Neutralfett nach Seifeneinwirkung nur noch 2 Möglichkeiten: 1. Es handelt sich um eine degenerative Verfettung im Sinne der infiltrativen Fettablagerung, bei der das durch die Seife geschädigte Gewebe mit dem Blutstrom herangebrachtes Fett aufnimmt; 2. Das in Erscheinung tretende Fett wird aus den Seifenfettsäuren neu gebildet.

Gegen eine infiltrative Verfettung, bei der das Fett aus den Fettdepots des Körpers stammt, spricht vor allem die Verteilung. Bekanntlich kommen derartige Verfettungen vorwiegend am Rande von Parenchymnekrosen und Infarkten vor. Geläufig sind uns ferner degenerative Verfettungen von Leberzellen und Tubulusepithelien der Niere. Sie zeichnen sich zum Unterschied von den Fettbefunden nach Seifeneinwirkung auf das Myometrium durch eine ziemlich Gleichmäßigkeit aus. Auch der verfettete Infarkttrand ist meist gleichmäßig von Fetttropfchen umsäumt. Wir beobachteten zwar mehrfach Saume aus feinsten Fetttropfchen am Rande von Nekrosen, aber meist waren die Tropfchen nicht zellgebunden, sondern lagen frei im Gewebe, und vor allem waren sie in und um Blutgefäße und Lymphspalten herum anzutreffen. Ein gleichartiges Verhalten ist uns aus der Pathologie nicht bekannt. Ein degenerativer Zerfall von Muskelzellen mit Verfettung ist es nicht, denn Muskelzellverfettungen treten, wie bereits dargelegt wurde, ganz zurück. Auch konnte nur in Einzelfällen der Eindruck entstehen, daß das Fett aus zerfallenen, verfetteten Leukocyten stammt. Oft waren in der näheren Umgebung der Fettablagerungen gar keine Leukocyten zu finden.

Schließlich war noch an eine Fettembolie zu denken. Vielfach war nämlich auch in den Lungengefäßen Fett nachweisbar. Doch kann schon deswegen ausgeschlossen werden, daß es sich bei den Fettbefunden im Myometrium um embolisch verschlepptes Fett handelt, weil in anderen Organen des großen Kreislaufs entsprechende starke Fetteinschwemmungen fehlten. Auch wäre das Fett dann in Arterien und Capillaren und nicht vorwiegend in Venen zu erwarten. Es dürfte vielmehr umgekehrt so sein, daß das in den Lungengefäßen nachweisbare Fett aus den Uterusgefäßen eingeschleppt wurde, sofern es nicht erst an Ort und Stelle aus eingeschwemmter Seife synthetisiert wurde (s. unten).

Die Fettbefunde in den Lymphcapillaren und ihrer Umgebung haben eine überraschende Ähnlichkeit mit Befunden, wie sie in der Darmwand nach Fettzufuhr erhoben wurden (vgl. STRACK, S. 241). Es liegt deshalb der Verdacht nahe, sie als Ausdruck eines gleichartigen Geschehens anzusehen, nämlich als Ausdruck des Abtransportes von Fett. Wir gehen dabei von der Vorstellung aus, daß die in die Gebärmutter eingedrungene Seife zunächst dissoziiert, daß dann die abgespalteten Fettsäuren zum Glycerid synthetisiert und erst in dieser Form abtransportiert werden. Zur Ermöglichung dieser Synthese müssen natürlich entsprechende Fermentmengen zur Verfügung stehen. Da wir in der Literatur keine Angaben über den *Lipasegehalt des Uterusmuskels* fanden, untersuchten

wir frische Leichenuterusmuskeln, von denen wir sofort nach der Sektion ohne Fixierung Gefrierschnitte anfertigten, histochemisch nach dem Verfahren von GOMORI-RICHTERLICH (s. bei LIPP) auf ihren Lipasegehalt¹.

Bei diesen Versuchen erhielten wir intensive Schwärzungen vor allem in den Gefäßwänden (Abb. 2) und am Rande von feineren Gefäßbästen, während das übrige Uterusgewebe nur locker von braunschwarz gefärbten Körnchen durchsetzt war. Die Verteilung des Ferments stimmt

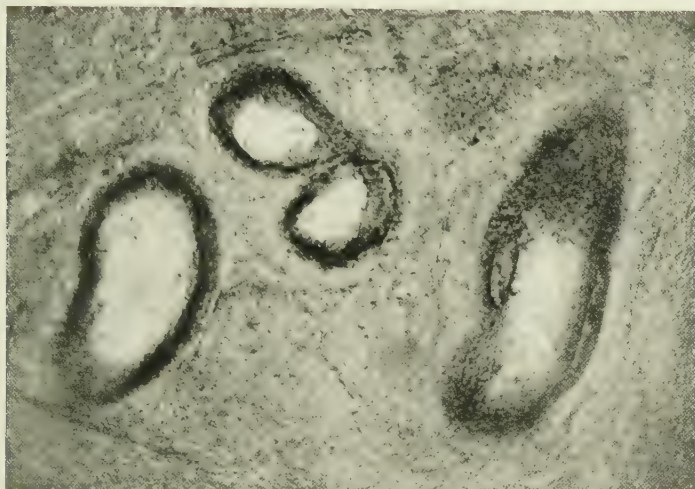


Abb. 2. Lipasereaktion im Uterusmuskel. Stärkste Befunde innerhalb der Gefäßwände

also insofern mit den Fettablagerungen nach Seifeneinspritzung überein, als auch hier häufig die stärksten Befunde in den Gefäßen und in ihrer Umgebung zu erheben waren. Die Lipase ist somit überraschenderweise bereits in erheblicher Menge in den Gefäßwänden vorhanden, z. T. dürfte sie ebenso wie das für die Fettsynthese erforderliche Glycerin mit dem Blut- bzw. Lymphstrom herangebracht werden.

Die *parenterale Fettbildung aus Seife* war schon um die Jahrhundertwende Gegenstand von Untersuchungen verschiedener Autoren. Die ersten Versuche dieser Art teilte v. RECKLINGHAUSEN (1889) mit. Bei Fröschen waren nach mehrstündigem Aufenthalt in dünnen Seifenlösungen Fettkörnchen in den mittleren und tieferen Schichten der Epitheldecke und in der Cornea zu beobachten. In stärkeren Seifenlösungen gingen die Tiere zugrunde und wiesen in Leber, Niere und Herzmuskel, manchmal auch in der Muskulatur Fettablagerungen auf. BENEKE (1897) beobachtete das Auftreten von Fettkörnchen in Muskel- und Bindegewebszellen in der Umgebung von Nekrosen, die sich nach Injektion von Sapo medicatus

¹ Dieses Verfahren beruht auf der Spaltung von Fettsäureestern in Fettsäuren, die dann in Bleisalze übergeführt und als Bleisulfid zur Darstellung gebracht werden.

entwickelt hatten. ARNOLD (1903) fand Fett in verschiedenen Organen, besonders Leber und Niere nach Injektion von Seife in den Rückenlymphsack bei Fröschen und unter die Rückenhaut bei weißen Mäusen. FISCHLER (1903) nahm Durchströmungsversuche mit Seifenlösung an der überlebenden Niere von Kaninchen vor und stellte Fettablagerungen in den Arterien, Glomerulusschlingen und schließlich auch in den Tubulusepithelien fest. Die Verfettungen traten bereits nach $1\frac{1}{2}$ Std auf, nach 6–24 Std war das Optimum erreicht. In weiteren Versuchen zusammen mit GROSS (1905), bei denen Einspritzungen in Venen bzw. Arterien des Kaninchens erfolgten, waren keine sicheren Verfettungen zu finden, aber auch Fettsäure ließ sich nicht nachweisen.

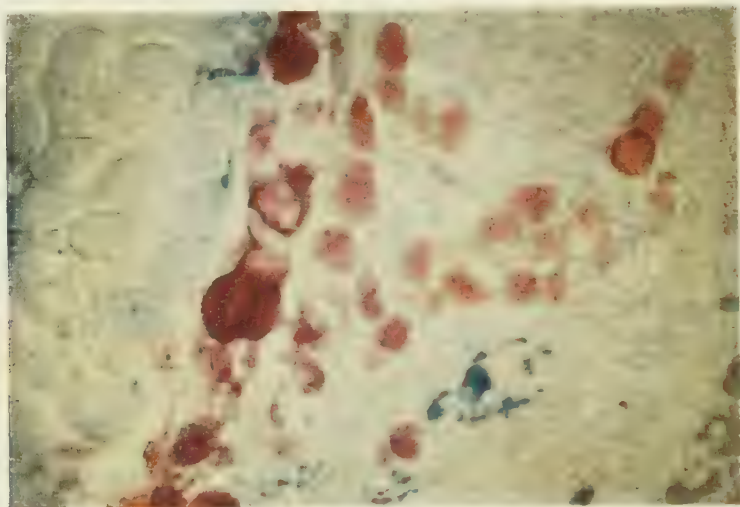


Abb. 3. Extremitätenmuskel vom Meerschweinchen, 14 Std nach Injektion von Ölsäure. Färbung mit Nilblausulfat. Links schwach blau gefärbte Muskelzellen, reichlich violett bis rosarot gefärbte Tropfen am Rande des Muskelbündels (Fettbildung)

Wir führten ähnliche Versuche wie sie FISCHLER an der überlebenden Kaninchenniere vornahm am frischen Leichen-*Uterusmuskel* durch. Nach Halbierung durchströmten wir eine Hälfte von den Arterien her mit 0,8%iger fettfreier Natriumoleatlösung, der etwas Glycerin zugesetzt war, die andere Hälfte mit physiologischer Kochsalzlösung so lange, bis die injizierte Flüssigkeit an der Schnittfläche deutlich hervortrat. Beide Teile verbrachten wir in der feuchten Kammer für 6 Std bei 37°C in den Brutschrank und fertigten anschließend ohne Fixierung Gefrierschnitte an und färbten mit Sudan III-Hämatoxylin und Nilblausulfat. In den mit Nilblausulfat gefärbten Schnitten war zu erkennen, daß die Seife bis in die feinsten Capillaren vorgedrungen war. Bei der Behandlung mit 70%igem Alkohol löste sich die Seife heraus. Nunmehr zeigte sich, daß an mehreren Stellen in größeren und kleineren Gefäßen Fetttropfchen aufgetreten waren, die mit Nilblausulfat rosarot, mit Sudan III

intensiv orangerot anfärbbar waren. In Schnitten der Vergleichshälfte war dagegen keine Spur von Fett zu finden.

Schließlich nahmen wir noch Einspritzungen von fettfreier Natriumoleatlösung und von reiner Ölsäure in Muskeln der Hinterläufe von Meerschweinchen vor, töteten die Tiere Stunden oder Tage später und untersuchten die Muskeln histochemisch. Vorsorglich führten wir auch Vergleichsuntersuchungen von unbehandelten Muskeln durch, um einen Überblick über den „normalen“ Fettgehalt der Muskeln zu gewinnen. Am Rande der mit Ölseife bzw. Ölsäure durchtränkten Muskelbündel traten mit zunehmender Zeitspanne zwischen Injektion und Tötung sich vergrößernde Fettmengen auf (vgl. Abb. 3). Sichere Befunde waren frühestens nach 1 Std zu erheben, nach 10 Std waren in allen Fällen völlig eindeutige Ergebnisse zu erzielen. Das Auftreten von Fett entsprach nicht dem Typ der degenerativen Verfettung, die Fetttröpfchen traten vielmehr vorwiegend zwischen den Muskelzellen auf und sammelten sich am Rande der Muskelbündel zu größeren Tropfen, so daß man auch hier den Eindruck gewann, als würde das Fett auf dem Lymphwege abtransportiert werden.

Auf Grund der gesamten Befunde halten wir den Schluß für gerechtfertigt, daß nach Einspritzung von Seifenwasser in die schwangere Gebärmutter Fett aus den Seifenfettsäuren neu gebildet wird.

Endometrium, Placenta und Adnexe nach Seifeneinwirkung

Die Schleimhautveränderungen des Uterus nach Seifeneinwirkung sind weniger charakteristisch als die des Myometriums. Die Schleimhaut kann an der einen Stelle völlig zerstört, an der anderen fast unverändert sein. Verfettungen findet man schon „normalerweise“ wenigstens in geringem Umfang, meist an der Basis der Drüsenepithelien. Nekrosen sind auch bei Aborten aus anderer Ursache nicht ungewöhnlich. Sie enthalten besonders nach Seifeneinwirkung oft reichlich fettfärbbare Stoffe, wobei es sich nicht nur um Neutralfett, sondern auch um Fettsäuren bzw. unzerlegte Seife handelt. Um sie histochemisch nachweisen zu können, empfiehlt es sich, die Abortreste in *Formalin* zu fixieren, *das mit Calciumsalicylat gesättigt ist*, weil sonst die Gefahr besteht, daß sich die Seifen bei der Fixierung herauslösen. Fettsäuren und Seifen färben sich mit den roten Sudanfarbstoffen nur blaß an, reagieren dagegen intensiv bei Anwendung des Fischlerschen Verfahrens und mit Nilblausulfat, besonders in der Wärme (s. unten). Postmortal werden Zerstörungen der Schleimhaut durch Seifenlösung nicht hervorgerufen, wie FRITZ feststellte, sie können aber infolge von Autolyse und Fäulnis zustande kommen. Schädigungen der *Tuben* sind bei tödlich ausgelaufenen Seifenabortionen häufig. Sie gehen teils von der Lichtung aus,

teils entstehen sie indirekt durch fortgeleitete Thrombosierungen der Blutgefäße. Mitunter gelangt die Seifenlösung durch die Tuben in die freie Bauchhöhle, wofür die erstmals von DYROFF (1925) nachgewiesenen rückläufigen peristaltischen Bewegungen der Tuben verantwortlich sein dürften, sofern die Lösung nicht schon bei der Injektion durch die Tuben hindurchgepreßt wird. Auch (meist einseitige) Mitbeteiligungen der *Ovarien* (RUNGE, BICKENBACH, BEAUFAYS, TILCHER u. a.) in Form von Nekrosen (durch Gefäßthrombosen), Hämorrhagien und entzündlichen Infiltraten sind nicht selten. Bei den lokalisierten Schädigungen durch Seife, die häufig zunächst aseptisch verlaufen, besteht oft eine erhebliche Diskrepanz zwischen den subjektiven Beschwerden und den tatsächlichen Veränderungen (POLANO).

Blut- und Blutfarbstoffveränderungen

Beim Einbruch der Seifenlösung in die Blutbahn kommt es nicht nur zur Ausbreitung der Seife im Organismus, sondern auch zur Schädigung des Blutes selbst, das dann von sich aus schädigende Einflüsse auf den Organismus entfaltet. Am bekanntesten unter den toxischen Wirkungen der Seife sind ihre hämolytischen Eigenschaften, die zuerst von NOGUCHI (1906) beschrieben wurden. Die Stärke der Hämolyse hängt von der Kettenlänge der Fettsäuren (nach JARISCH beginnt die Wirksamkeit erst bei mehr als 12 C-Atomen) und ihrem Sättigungsgrad ab. Alkalisalze ungesättigter Fettsäuren wirken starker hämolytisch (BREUSCH u. BODUR) als die gesättigter Fettsäuren. Da Serum einen inaktivierenden Einfluß auf Seife ausübt (V. LIEBERMANN, NOGUCHI u. a.), wirken im Vollblut erst größere Seifenmengen hämolytisch als bei Einwirkung auf gewaschene Erythrocyten.

JARISCH hält es für unmöglich, daß Seife im Blut undissoziiert beständig ist. Nach seinen Feststellungen spaltet sich das Molekül bei pH -Werten unter 8,5. [Wegen der postmortalen Säuerung der Gewebe (O. SCHMIDT) wäre die Seife in der Leiche erst recht nicht beständig.] Bei dem hohen Alkalibindungsvermögen des Serums bleibt die Seife somit nur noch in Form eines ihrer Spaltprodukte, der Fettsäure, im Blut vorhanden, die nach JARISCH durch Eiweißkörper, die als Schutzkolloid dienen, in feinster Verteilung stabilisiert wird. In dieser Form ist die Fettsäure „maskiert“ und kann daher histologisch nicht dargestellt werden, weshalb es außer in den Genitalorganen ziemlich aussichtslos ist, Seifenwassereinspritzungen durch den histochemischen Nachweis freier Fettsäuren feststellen zu wollen.

Auch die reinen Fettsäuren sind nach den Beobachtungen verschiedener Autoren hämolytisch wirksam, jedoch erst in wesentlich stärkeren Konzentrationen als die entsprechenden Seifen. Nach FÜHNER u. NEUBAUER wirken niedrige Fettsäuren (Ameisen- bis Capronsäure) nicht hämolytisch, nach FAUST u. TALLQVIST auch Palmitin- und Stearinsäure nicht. Die zuletzt genannten Autoren erzielten nur

mit ungesättigten Säuren eine Hämolyse. Sie benötigten 1—5 mg Fettsäure, um eine vollständige Hämolyse in 10 ml einer 2%igen Blutkörperchenaufschwemmung innerhalb von 2 Std bei 37° zu erreichen. Die erforderlichen Mengen waren also relativ groß. Da die Versuche an gewaschenen Blutkörperchen durchgeführt wurden, ist daran zu denken, daß die hämolytisch wirksame Konzentration noch wesentlich höher liegt, wenn Serum anwesend ist, da vermutlich auch die Fettsäuren in ihrer hämolytischen Wirksamkeit vom Serum inaktiviert werden. Damit wäre eine Erklärung dafür gegeben, daß wir in eigenen Versuchen an Kaninchen auch nach intracardialer Injektion erheblicher Mengen von Fettsäureemulsionen keine Zeichen einer Hämolyse (Urinuntersuchung) und überhaupt keine Veränderung im Wohlbefinden der Tiere feststellen konnten. Die Fettsäureemulsionen stellten wir durch Beschallung mit Ultraschall (430 KHz, 6 W/cm²) her, wofür uns die Firma Siemens-Schuckertwerke AG, Erlangen und Nürnberg, freundlicherweise die Geräte zur Verfügung stellten. Mit Palmitin- und Stearinsäure erhielten wir auf diese Weise jedoch nur schwach konzentrierte Emulsionen (0,3—0,5%), mit Ölsäure dagegen 8—10%ige Emulsionen in physiologischer Kochsalzlösung. Die infundierten Mengen betrugen 20—30 ml, so daß 2—3 g Ölsäure in die Blutbahn gelangten. Von insgesamt 8 Versuchstieren wurden 4 sofort nach Beendigung der Infusion getötet, doch waren weder bei diesen noch bei den Tieren, die nach der Injektion einige Stunden am Leben gelassen wurden, histochemisch Fettsäuren und auch keine abnormen Fettablagerungen nachzuweisen. Die Lebern der Versuchstiere wiesen zwar z. T. Verfettungen auf, doch waren diese nicht stärker als bei den Kontrolltieren, die nur physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten.

Die Ansicht von RABBENO, daß die Hämolyse bei Seifenintoxikation auf die Fettsäuren zurückzuführen ist, findet in unseren Versuchen keine Stütze. Wir können vielmehr aus unseren Befunden schließen, daß die bei einer Seifenwassereinspritzung allenfalls in den Körper gelangenden Fettsäuremengen für das Krankheitsbild der Seifenintoxikation von untergeordneter Bedeutung sind.

Neben der Hämolyse wurden noch andere Blutschädigungen bei der Seifenintoxikation beobachtet (HASELHORST u. MERTENS, BOCK u. HEITER, HELLER u. a.). Dabei handelte es sich vor allem um Methämoglobin, Bilirubin und Hämatin. Nach den Angaben von BOCK u. HEITER konnte BINGOLD bei einem ihrer Fälle diese Blutfarbstoffderivate in einer nie zuvor gesehenen Intensität in Blut und Urin nachweisen. Da in der Literatur eine genügend empfindliche Nachweismethode für Hämatin nicht zu finden war, arbeiteten wir ein einfaches Verfahren aus, über das an anderer Stelle berichtet wurde [SCHWERD (1)]. Bei Voruntersuchungen über die Möglichkeit des spektrophotometrischen Nachweises von Hämatin studierten wir die Frage der Bindung dieses Farbstoffes an Serumproteine [SCHWERD (2)] und das Verhalten des Farbstoffes in autolytisierendem und faulendem Serum [SCHWERD (3)].

In diesem Zusammenhang sei kurz auf die Frage eingegangen, ob die Methämoglobin- und Hämatinbildung eine direkte Seifenwirkung ist. Beim Methämoglobin kann man dies ohne weiteres annehmen, weil es bald nach dem Einströmen von Seife in die Blutbahn nachweisbar ist und auch in vitro oder nach dem Zusammenbringen von Blut und Seifenlösung zustande kommt. Hämatin soll dagegen erst nach mehreren Stunden auftreten. HASELHORST u. MERTENS fanden

es erst 8 Std nach Injektion von Schmierseife (0.12—0.28 g/kg Körpergewicht) in die Blutbahn von Hunden. Da nicht angenommen werden kann, daß sich Seife längere Zeit undissoziiert im Blute hält, dürfte die *Hämatinbildung keine direkte Seifenwirkung* sein. Hämatin scheint sich zwangsläufig dann zu bilden, wenn größere Hämoglobinnengen im strömenden Blut extracellulär vorhanden sind. So fand FAIRLEY nach Injektion einer Hb-Menge, die zu einem Plasmaspiegel von 200—300 mg-% führte, nach 4—10 Std Methämalbumin [die vermeintliche Serumverbindung des Hämatins — s. dazu SCHWERD (2)], das 27—34 Std nachweisbar blieb. Bei Inkubation von Hb mit Serum bei 37° beobachteten DOLJANSKI u. KOCH das Auftreten von Hämatin nach etwa 5 Tagen. FAIRLEY konnte es unter den gleichen Bedingungen bereits nach 44 Std nachweisen.

Unter weiteren Blutveränderungen nach Seifeneinwirkung sind Gerinnungsstörungen (MUNK 1889 u. a.), Verschiebungen in der Eiweißzusammensetzung des Serums, Veränderungen des Natrium- und Kaliumgehaltes und p_{H} -Verschiebungen (KRAUS) zu erwähnen. Zwangsläufig bleiben infolge des Blutzerfalls nach Seifenintoxikationen mehr oder weniger starke Anämien zurück.

Einer kurzen Erwähnung bedürfen noch die Befunde von BROWN u. Mitarb., daß nach intravenöser Injektion von Hämatin bei Ratten Paroxysmen auftreten, die denen bei Malaria gleichen. ANDERSON u. Mitarb. bestätigten dies und stellten ferner krankhafte Nierenveränderungen fest, die sie ebenfalls als toxische Effekte des Hämatins werteten. Bei der Ähnlichkeit mit Befunden, die bei der Seifenintoxikation zu beobachten sind, drängt sich die Frage auf, inwieweit auch hier das Hämatin als zusätzlicher toxischer Faktor in Betracht kommt. Hierüber liegen noch keine Untersuchungen vor.

Befunde an den parenchymatösen Organen

Bei den Organschädigungen kann nicht sicher abgegrenzt werden, inwieweit es sich um direkte Wirkungen der Seife oder aber indirekte, durch die Blutveränderungen bedingte Effekte handelt. Nach den Befunden von JARISCH (s. oben) kann nicht angenommen werden, daß sich die Seife längere Zeit im Blut undissoziiert hält. Doch muß damit gerechnet werden, daß sich die Seife zunächst schwadenförmig ausbreitet, und deshalb ist es durchaus denkbar, daß auch an den parenchymatösen Organen direkte Seifenschädigungen zustande kommen. Ganz besonders ist dies bei der *Lunge* zu erwarten, da sie von der in die Blutbahn einströmenden Seife zunächst betroffen wird. Hier fanden wir dementsprechend bei fast allen von uns untersuchten Fällen krankhafte Veränderungen. Sie bestanden in Gefäßdilatationen, Blutextravasaten, Verquellungen der Capillarendothelien und Alveolarmembranen, hämolytischem bzw. hämorrhagischem Ödem, Fettablagerungen in den Lungengefäßen fehlten nur in 4 von 19 Fällen, bei denen das Lungengewebe zur Untersuchung zur Verfügung stand. Die Befunde wechselten zwischen geringen und so erheblichen Fettablagerungen in den Gefäßen,

wie man sie sonst bei schweren Fettembolien findet. Doch fehlten in diesen Fällen entsprechende Fettgewebsquetschungsherde oder Knochenverletzungen. Das Auftreten von Fett ist vielmehr, ebenso wie wir dies für die Uterusgefäße oben ausführlich dargelegt haben, vor allem in einer Neubildung von Fett aus Seife zu sehen und daneben wohl auch in einer Verschleppung von Fett aus den Gefäßen des Uterus. Auf die Fettneubildung weist besonders die Tatsache hin, daß die stärksten Fettbefunde in der Lunge bei jenen Fällen festzustellen waren, bei denen der Eingriff schon mehrere Tage vor dem Tode erfolgt war. Dagegen ließ sich bei den akut tödlich verlaufenen Fällen kein Fett oder nur geringe Mengen davon nachweisen. In einem Falle beobachteten wir die schon von HASELHORST u. SCHALTENBRAND erwähnte fettige Degeneration der Alveolarmembranen (Abb. 5). Hier hatte der erste Eingriff 3 Wochen vor dem Tode stattgefunden.

Bei der Erörterung der Frage, ob eine direkte Einwirkung der Seife auf andere Organe als Gebärmutter und Lunge überhaupt denkbar ist, weil man ja spätestens nach der Passage des Capillarsystems der Lunge eine Dissoziation der Seife annehmen muß, dürfen die Kurzschlußverbindungen des Kreislaufs nicht übersehen werden. Wir denken dabei weniger an ein offenes Foramen ovale in der Vorhofscheidewand des Herzens, dessen Bedeutung für den Übertritt von einer Vorhofsseite zur anderen man nicht überschätzen sollte, sofern nicht ein wirklicher Vorhofscheidewanddefekt vorhanden ist, sondern an die arteriovenösen Anastomosen in der Lunge. E. MÜLLER (1) vertrat die bemerkenswerte Ansicht, daß diese Sperr-einrichtungen durch die Seifenwirkung eine Schädigung erfahren können und somit wäre ein Übertritt von undissoziierter Seife in den großen Kreislauf wohl denkbar.

Der *Herzmuskel* wies bei unseren Fällen von Seifenintoxikation meist keine groben krankhaften Veränderungen auf. Da im Myokard schon normalerweise wechselnd viel Fett vorkommt, ist beim Anfertigen der mikroskopischen Präparate mit dem Gefriermikrotom die Gefahr der Verschleppung bzw. Verschmierung von Fett gegeben, weshalb die sichere Beurteilung einer Fettablagerung in den Gefäßen oft nicht möglich ist. Verfettungen im Sinne der sog. Tigerung des Herzmuskels wurden mehrmals gefunden. Sie waren zweifellos Folge der Hypoxämie.

Während über klinische Zeichen von Störungen der *Leberfunktion* bisher nur selten berichtet wurde (SCHOLZ, vgl. auch DIEKE), findet man mehrere Hinweise auf pathologisch-anatomische Veränderungen des Lebergewebes in der Literatur (OTTOW, HASELHORST u. SCHALTENBRAND, MOELL, ADAM u. a.). Neuerdings beobachtete PUDEK schwere Leberschädigungen bei 2 seiner Patientinnen, die innerhalb von 24 Std nach der Seifenwassereinspritzung starben, und führte den raschen Todeseintritt darauf zurück. In weitgehender Übereinstimmung mit den anderen Autoren fanden wir Dissoziationen der Leberzellen, Verquellungen und häufig Ablösungen der Capillarwände von den Leberzellbalken, sowie Eiweißmassen in den Disséschen Räumen als Ausdruck

von Permeabilitätsstörungen (seröse Hepatitis bzw. toxisches Leberödem, vgl. ADAM — dort Abbildung), Nekrosen (meist umschrieben) und bei länger zurückliegenden Eingriffen entzündliche Infiltrate. Wir konnten in allen Fällen mehr oder weniger starke Veränderungen, vorwiegend degenerativer Art in der Leber feststellen (wobei es allerdings nicht immer möglich war, sie von postmortalen Gewebsschädigungen abzugrenzen), dagegen beobachteten wir auffallenderweise nur in 2 Fällen stärkere Verfettungen der Leberzellen. Meist waren keine oder nur ganz schwache Fetttbefunde zu erheben. Starke Verfettungen, wie man sie sonst bei schweren Intoxikationen zu sehen gewohnt ist, waren kein einziges Mal vorhanden, was besonders deshalb erstaunlich ist, weil sich bei der Seifenintoxikation ja bekanntlich meist erhebliche hypoxämische Zustände entwickeln, die sonst zu den typischen acinozentralen Verfettungen der Leberzellen führen.

Einer etwas ausführlicheren Besprechung bedürfen die Veränderungen der *Niere* bei der Seifenintoxikation, die anscheinend besonders klinisch noch immer zu wenig Beachtung finden, obwohl sie vielfach für das Schicksal der Patientinnen von ausschlaggebender Bedeutung sind. Klinisch entwickelt sich die für das Krankheitsbild der Seifenintoxikation geradezu typische *Niereninsuffizienz* mit mangelhafter, oft völlig versiegender Harnausscheidung und Retention harnpflichtiger Substanzen, kurz, es kommt zu Urämie. Lediglich der sonst typische Blutdruckanstieg fehlt mitunter wegen gleichzeitiger toxischer Vasomotoren-lähmung.

Das *pathologisch-anatomische Bild der Niere* nach Seifenwassereinspritzungen in die Blutbahn bezeichneten HASELHORST u. SCHALTENBRAND als das einer schweren Nephrose, doch haben die Nierenveränderungen hierbei einige recht kennzeichnende Besonderheiten, die wahrscheinlich nicht nur direkte Seifenschädigungen sind, sondern auch mit der Hämolyse und den Blutfarbstoffveränderungen zusammenhängen (vgl. auch FASSBENDER). Das Organ ist meist geschwollen und an der Oberfläche fleckig gefärbt. Das mikroskopische Bild entspricht in den Fällen, die 2–3 Tage nach dem Eingriff tödlich enden, oft sehr weitgehend dem sog. Häm- bzw. Methämoglobinfarkt, wie er früher vor allem bei der Kaliumchloratvergiftung beobachtet wurde. Die Sammelröhren sind hochgradig mit bräunlichen, körnigen Hämoglobincylinde- ren gefüllt (vgl. Abbildung bei ADAM). Auch in den Schleifen und Schaltstücken sind derartige Gebilde zu finden. Wir sind der Meinung, daß die Hämoglobinausscheidung, ebenso wie man dies schon früher für den Hämoglobinfarkt der Niere annahm, auch bei der Seifenintoxikation im Bereich der Hauptstücke stattfindet, deren Epithelien durch toxische Einflüsse geschädigt sind. Die Zylinderbildung kommt dagegen erst in

den distaleren Bezirken des Kanälchensystems durch Rückresorption von Flüssigkeit und der damit verbundenen Eindickung zustande.

Die Zylinderbildungen sind indessen kein regelmäßiger Befund, dagegen *gehören Veränderungen des Nierenparenchyms unbedingt zum histologischen Bild der Seifenintoxikation*. Regelmäßig beobachtet man Epithelschädigungen im Bereich der Hauptstücke, die oft ein so beträchtliches Ausmaß erreichen, daß man von einer „akuten Tubularnekrose“ spricht. (Übrigens behaupteten die englischen Autoren BULL, JOEKES u. LOWE 1956, daß die intrauterine Seifenspülung die häufigste Ursache der akuten Tubularnekrose sei.) Die Capillarschlingen der Glomeruli und der Bowmanschen Kapsel fanden wir meist verquollen, das Zwischengewebe war, besonders im Mark, ödematös durchtränkt, dagegen waren auffallenderweise, wie bei den Leberepithelien, Verfettungen der Tubulusepithelien ausgesprochen selten. Häufig fanden sich jedoch Fettablagerungen innerhalb von Gefäßen, manchmal auch in den Glomerulusschlingen. Mitunter lagen Fetttröpfchen innerhalb der Hämoglobinzylinder im Mark.

Über Entstehungsweise der Nierenveränderungen besteht keine einhellige Meinung. Mehrfach wurde geäußert, daß die Tubulusepithelien durch das zur Ausscheidung gelangende Hämoglobin geschädigt werden und daß es durch „Verstopfung des Nierenfilters mit Blutschlacken“ zur Oligurie bzw. Anurie käme (GEPPERT, BINGOLD, HEITER u. a.). Doch ist gerade die letztere Auffassung angesichts der Tatsache, daß kaum jemals sämtliche Sammelröhren verstopft sind, nicht sehr einleuchtend. Überzeugender ist die Auffassung, daß der Nierenfunktionsstörung eine Ischämie der Nierengefäße zugrunde liegt (BLACKBURN u. a.).

Da die Störungen der Nierenfunktion meist erst nach Stunden oder Tagen einsetzen, hat man sie auch als Spätschäden (HELLER) bezeichnet. Das Seifenmolekül kann sich aber, wie erwähnt, nicht längere Zeit undissoziiert im Blut halten, weshalb daran zu denken ist, daß es sich bei den Nierenschädigungen nicht um direkte Seifenwirkungen handelt. Die Spaltprodukte des Seifenmoleküls: Fettsäure und Alkali scheinen in den in Betracht kommenden Mengen nicht von Bedeutung zu sein. Die intravenöse Injektion von fein in Kochsalzlösung emulgierter Ölsäure ergab, wie wir in Tierversuchen feststellten (s. oben), keine Störungen des Wohlbefindens der Tiere und das frei werdende Alkali dürfte dank des Alkalibindungsvermögens ebenfalls rasch neutralisiert werden (vgl. MANZ u. LORKE). Es ist daher vor allem an Eiweißzerfallsprodukte als Ursache der Organschädigungen zu denken. Diese Vermutung wird durch die Tatsache bekräftigt, daß nicht nur bei der Seifenintoxikation und der Kaliumchloratvergiftung, sondern auch nach der Transfusion von gruppenungleichem Blut ganz ähnliche Zustandsbilder der Niere zu finden sind (AYER u. GAULD, H. W. SACHS u. a.). Bedenkt man aber, daß diese Nierenschädigungen bei ganz verschiedenen Intoxikationen beschrieben wurden, die alle als *gemeinsames Merkmal* den *Blutzerfall* haben, so drängt sich der Gedanke auf, daß der Blutfarbstoff selbst bzw. seine Derivate fähig sind, derartige Veränderungen hervorzurufen. Bezüglich des Hämatins haben wir schon weiter oben darauf hingewiesen. Neuerdings haben BLACKBURN u. Mitarb. gezeigt, daß eine intravasale Hämolyse, wie sie durch die Infusion von destilliertem Wasser zu erreichen ist, eine ausgeprägte renale Vasoconstriction und schwere Oligurie beim Menschen

herbeiführt, die aber durch intravenöse Injektion von Parathormon rückgängig gemacht werden konnte. Auch bei Anurie nach Seifeneinspritzung hat man damit bereits gute Erfolge erzielt (BANSI).

Die *Milz* weist wie bei allen mit stärkerem Blutzerfall einhergehenden Erkrankungen häufig eine Vergrößerung auf, doch ist der Milztumor manchmal auf eine sekundär sich entwickelnde septische Infektion mit zurückzuführen. Histologisch bietet sich das übliche bei derartigen Zuständen zu findende Bild. Vereinzelt sahen wir Fett in der roten Pulpa und Verfettungen der Hülsenarterien, wie sie MURRAY u. FREEMAN nach der intravenösen Injektion von fetthaltigem Chylus beobachtet haben. Bei länger zurückliegenden Fällen ist an Hämosiderinablagerungen zu denken (FEHMANN).

Die *Gehirnschädigungen* nach Einspritzung von Seifenwasser in die schwangere Gebärmutter wurden von NEUBÜRGER, BOCK, HASELHORST u. SCHALTENBRAND, MAKAY u. HASELHORST und KORNJEY genauer untersucht. Makroskopisch findet man Erweichungsherde, mikroskopisch Degenerationen von Ganglienzellen, Gliazellwucherungen, Blutaustritte, Endothelquellungen und Gefäßwandnekrosen. Da in Hunderversuchen (HASELHORST u. SCHALTENBRAND, MAKAY u. HASELHORST) nach Einspritzung von Seifenlösung in die Carotis die cerebralen Symptome (Hemiplegie mit halbseitigen Gefühlsstörungen) nicht sofort, sondern erst nach etwa $1\frac{1}{2}$ Std auftraten, nahmen die Autoren an, daß es sich nicht um eine direkte Schädigung der Ganglienzellen durch die Seife handelt, daß vielmehr die Seife einen Prozeß auslöst, der zu einer zunehmenden Verschlechterung der Blutversorgung des Hirngewebes führt, daß also die Seifenlösung vor allem eine Gefäßschädigung verursacht.

Klinisch besteht bei schweren Fällen von Seifenvergiftung oft (aber keineswegs immer!) eine zunehmende Bewußtseinsstörung, ferner werden epileptiforme Anfälle und allgemeine tonische Krämpfe als Ausdruck der schweren Gehirnveränderungen beobachtet. In einem Fall wurde auch eine länger anhaltende, fast vollständige Erblindung beschrieben (COMBERG), wofür jedoch die schwere Ausblutung der Patientin verantwortlich gemacht wurde. Nach SCHRECK findet man nach Seifenaborten mitunter Netzhautblutungen.

Der direkte Seifennachweis

Der direkte Nachweis von Resten der Seifenflüssigkeit in Scheide und Gebärmutter gelingt praktisch nur dann, wenn der Tod während der Abtreibungshandlung oder kurz danach eintritt, wobei die Todesursache meist eine Luftembolie ist. Auch in den Fällen, in denen der Tod wenige Stunden nach dem Eingriff, sei es infolge einer massiven Seifenschädigung des Organismus, sei es infolge einer protrahierten Luftembolie oder einer Kombination dieser Zustände, eintritt, ist meist noch Seifenwasser in Gebärmutter und (oder) Scheide vorhanden. Die

„reine Seifenintoxikation“ verläuft dagegen, wenn die in die Blutbahn eingeströmte Seifenmenge nicht allzu groß war, gewöhnlich erst nach 2—4 Tagen tödlich. Inzwischen ist meist ein Abgang erfolgt, wobei die Seifenwasserreste aus der Gebärmutter größtenteils mit herausgeschwemmt wurden. In diesen Fällen gelingt der *direkte* Seifennachweis kaum noch, die Seifeneinwirkung auf den Organismus können wir nur mit Hilfe der in den vorangegangenen Abschnitten aufgezeigten Veränderungen *indirekt* nachweisen. Bei den Spättodesfällen, bei denen die Todesursache häufig eine Sepsis ist, sind Seifenreste schon gar nicht zu erwarten. Ging die Sepsis von einer lokalisierten Gewebsschädigung aus, ohne daß größere Seifenmengen in den Organismus eingedrungen sind, dann ist die ursprüngliche Seifenschädigung kaum mehr nachzuweisen, abgesehen davon, daß die septischen Organschädigungen auch andere durch die Seifeneinwirkung bedingte Veränderungen verwischen können.

Beim chemischen Seifennachweis müssen die Besonderheiten berücksichtigt werden, die sich durch die Vermischung mit Fruchtwasser, Blut usw. ergeben. So gestattet das *Schaumvermögen* einer Probe nicht den Rückschluß auf das Vorhandensein von Seife, weil Eiweißlösungen von sich aus schäumen. Auch eine *alkalische Reaktion* ist nur dann ein brauchbarer Hinweis auf Seife, wenn noch keine Fäulniserscheinungen bestehen. Die zahlreichen *Seifenzusätze* (Füllmittel, Bleichmittel usw.) haben für den Seifennachweis in Leichenteilen nur eine untergeordnete Bedeutung, weil bei Abtreibungshandlungen überwiegend *reine Kernseifen*, bzw. daraus hergestellte Seifenpulver, -flocken oder -schnittel oder Schmierseife Verwendung finden, die relativ arm an solchen Zusätzen sind. Findet man indessen derartige Zusätze, dann sind sie beweisend für die Einspritzung eines körperfremden Stoffes (Seifenwasser, Waschmittellösung). Ein seltener aber wichtiger Hinweis auf eine Seifenwassereinspritzung ist ein *Parfumeruch* des Scheiden- oder Uterusinhalts, worauf schon bei einer Sektion geachtet werden muß. In unserem Material waren unter 31 Fällen 2, bei denen Toiletteseife benutzt wurde. In dem einen Fall war der Parfumeruch trotz stärkerer Fäulnisveränderungen noch deutlich wahrnehmbar.

Unter den in Seifen vorkommenden Fremdstoffen sind vor allem *Stärke und Zelluloseabkömmlinge* relativ einfach nachweisbar. Beide Stoffe erkennt man mikroskopisch, eventuell nach Waschen und Zentrifugieren des (meist blutigen) Seifen- oder Uterusinhalts. Die charakteristischen Stärkekörner lassen sich besonders leicht im Polarisationsmikroskop auffinden und die Zellulosederivate (Tylose, Relatin) erscheinen als perlschnurartige Gebilde, die sich mit Methylenblau anfärben. Da sie aber in den Seifen nur in geringer Menge vorhanden sind, ist ein positiver Befund nur ausnahmsweise zu erwarten.

Neuerdings findet man in Seifen und Waschmitteln vielfach sog. *optische Aufheller* (Dicumarine, Stilbene), die man am einfachsten im ultravioletten Licht erkennen kann. Lösungen, die optische Aufheller enthalten, zeigen die weißlichbläuliche Fluoreszenz noch in starken Verdünnungen. Für die Auffindung von Seifen im Blut tritt aber sehr störend in Erscheinung, daß die *Fluoreszenz* der *optischen Aufheller* *bereit bei geringen Blutbeimengungen* erlischt. Sie bleibt aber in Seifenbröckeln erhalten, weshalb es sich lohnen kann, verdächtiges Material im filtrierten UV-Licht zu betrachten.

Die *anorganischen Nebenbestandteile* der Seife werden gewöhnlich in der Asche bestimmt (vgl. Einheitsmethoden der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft). Bei der Untersuchung einer Aschenprobe von Scheiden- oder Uterusinhalt ist aber zu beachten, daß z. B. Chloride, Sulfate und Phosphate schon normalerweise vorhanden sind. Wichtig sind daher Bestandteile, die normalerweise fehlen. Hierbei ist vor allem an *Borate* zu denken, die bekanntlich am einfachsten dadurch nachgewiesen werden, daß man eine Aschenprobe im Platintiegel mit einem Tropfen Schwefelsäure und etwas Methanol versetzt und dieses entzündet. Ist Borsäure zugegen, dann brennt der Alkohol mit grüner Flamme.

In der Asche von 6 Kernseifen verschiedener Herkunft waren bei spektralanalytischer Untersuchung (die dankenswerterweise Herr Prof. Dr. ANDRESS, Inst. für anorganische Chemie der Univ. Erlangen, vornahm) regelmäßig Kupfer, Silicium, Eisen, Calcium und Aluminium vorhanden. Mit einer Ausnahme wurde in den Seifen Magnesium und mit 2 Ausnahmen Titan nachgewiesen. Blei enthielten nur 2 Seifen, Nickel, Kobalt, Zink, Zinn, Mangan, Chrom, Vanadium, Beryllium, Wismut, Antimon und Silber fehlten in allen Proben.

Am meisten fällt das Vorhandensein von *Titan* in 4 von 6 Kernseifen auf. Dieses Element findet in der Waschmittel- und Farbenindustrie in Form des Dioxyds (TiO_2) als *Weißmacher* Verwendung. Es läßt sich außer auf spektralanalytischem Wege polarographisch und chemisch schon in Gammamengen nachweisen. Da es im menschlichen Körper nur in geringsten Spuren von wenigen Gammaprozent (MAILLARD u. ETTORI) vorkommt, glauben wir angesichts der relativ großen, in den Kernseifen enthaltenen Titanmengen, den Titannachweis bei Verdacht auf Seifen-einwirkung empfehlen zu können.

Nachweis von Titan

a) auf polarographischem Wege:

Zunächst führten wir eine Veraschung von je 5 g Material mit Salpeter-, Schwefel- und Perchlorsäure durch, die jedoch für sich allein noch nicht genügte, um vorhandenes Titan in eine wasserlösliche Form überzuführen. Es mußte noch ein

Aufschluß des Rückstandes mit Pyrosulfat erfolgen, wobei wir etwa 2 g Natriumpyrosulfat verwendeten (vgl. auch HEJNA). Nach dem Erkalten nahmen wir den Salzrückstand mit 5 ml n/20 Schwefelsäure auf und erhitzen kurz bis zum Sieden, wobei sich der Rückstand völlig auflöste. Die erkaltete Lösung wurde in das Entlüftungsgefäß nach WEINIG (1) filtriert, das im Innern eine Zerstäubungsvorrichtung enthält. Durch das Zerstäuben mit Hilfe von sauerstofffreiem Stickstoff wird die Lösung sofort entlüftet und gleichzeitig in das Elektrolysegefäß überführt. In diesem muß die Anode durch Hinzutropfen von Quecksilber erst eine genügend große Oberfläche erreicht haben, bevor man das erste Polarogramm aufnimmt. Die Titanstufe fanden wir in dieser Lösung zwischen $-1,2$ und $-1,4$ V.

Bekanntlich kann auf Grund der Stufenhöhe eine sehr exakte Aussage über die vorhandene Titanmenge gemacht werden (vgl. v. STACKELBERG, S. 92—100). Die Empfindlichkeit ist noch etwas höher als für Blei. Die Grenze der Nachweisbarkeit liegt bei wenigen Gamma. Da die Seifen mitunter auch Blei enthalten, wird man zweckmäßigerweise die polarographische Untersuchung auch auf dieses Element ausdehnen. Dabei empfiehlt es sich, die Lösung durch Zusatz von einigen Tropfen gesättigter NaOH etwas zu alkalisieren. Die Bleistufe beginnt bei etwa $-0,7$ V [vgl. WEINIG (2)]. Zu beachten ist jedoch, daß Blut und menschliche Gewebe schon normalerweise Spuren von Blei aufweisen. Nach den polarographischen Untersuchungen von WEINIG, NEUGEBAUER u. NEUGEBAUER sind als Normalwerte im Blut bis zu 40 γ -% anzusehen.

b) auf chemischem Wege:

Hierzu eignet sich vor allem die Probe mit Wasserstoffsuperoxyd (vgl. von DER PFORDTEN). Titan muß in wasserlöslicher Verbindung vorliegen. Organisches Material ist daher zu veraschen und mit Pyrosulfat aufzuschließen (s. oben). Der Aufschluß wird mit verdünnter Schwefelsäure aufgenommen und mit etwas Wasserstoffsuperoxyd versetzt. Bei Anwesenheit von Titan färbt sich die Lösung orangerot bis gelb. Es lassen sich noch etwa 10 γ Titan erfassen.

Sofern im Uterusinhalt ein positiver Titanbefund (der vorsorglich spektralanalytisch gesichert werden sollte) von mehr als 20 γ -% zu erheben ist, kann mit genügender Sicherheit auf eine Abtreibungshandlung geschlossen werden. In einem Fall, in dem uns der Uterus bereits im fixierten Zustand übersandt wurde, gelang uns der Nachweis von Titan sowohl in der Formalinlösung als auch in Schleimhaut- bzw. Placentarresten. Vergleichsformalin gleicher Herkunft war titanfrei.

Die Seifenfettsäuren

Je besser eine Seife ist, desto höher ist ihr Gehalt an Fettsäuren. Bei guten Kernseifen liegt er zwischen 60 und 80%. Er überragt damit prozentual in weitem Abstand alle anderen Seifenbestandteile, die, von Wasser abgesehen, höchstens einige Prozent, vielfach weniger als 1% ausmachen. Auch der Gehalt an freiem Alkali muß bei Kernseife unter 0,2% liegen, bei Schmierseifen darf er nicht mehr als 1% betragen.

Bei dem hohen Fettsäuregehalt der Seifen bietet deren Nachweis am ehesten Aussicht auf Erfolg. Doch muß die Tatsache beachtet werden, daß *postmortal regelmäßig freie Fettsäuren auftreten*. Da über Art und Ausmaß der bei Autolyse und Fäulnis auftretenden Fettsäuren

bisher noch keine genügenden Untersuchungen vorlagen, haben wir entsprechende Versuche durchgeführt, die von C. KRATZ und C. REICHENBACH im Rahmen ihrer Doktorarbeiten nachgeprüft und durch Versuchsreihen ergänzt wurden.

Das postmortale Auftreten von freien Fettsäuren ist eng mit dem Problem der *Fettwachsbildung* verknüpft, da ja das Fett- oder Leichenwachs bekanntlich im wesentlichen aus freien Fettsäuren und ihren Calcium-, Magnesium- und Ammoniumsalzen besteht. Bis heute gehen jedoch, wie schon zur Zeit der Entdeckung des Fettwachses durch FOURCROY und THOURET (die 1789 unabhängig voneinander ihre Beobachtungen mitteilten), die Meinungen darüber auseinander, ob das Fettwachs nur aus praformierten Fett (LUDWIG, v. HOEMANN, ZILLNER, ERMANN, COESTER, WALCHER u. a.) oder auch aus Organ- und Muskelweiß (KRATZER, ASCARELLI, IPSEN, BÜRGER u. a.) entsteht. Allerdings stützen die bisher genannten Autoren ihre Ansicht auf rein morphologische Befunde. Die ersten chemischen Untersuchungen zu dieser Frage stammen wohl von LEHMANN (1888), der Pferdefleisch teils unter Alkohol, teils unter fließendem Wasser 7½ Monate lang aufbewahrte und in der gewässerten Portion eine Zunahme des Fettsäuregehaltes um etwa 100% fand. Ähnliche Ergebnisse erzielten auch BERGEAT, VOLT und SALKOWSKY.

Bei den eigenen Versuchen gingen wir in der Weise vor, daß wir Blut bzw. Organewebe bei Zimmertemperatur (20–22°C) tage- bis wochenlang in verschlossenen Gefäßen unter einer Luftsäule der Fäulnis aussetzten und in Abständen von mehreren Tagen die Gesamtmenge an Fettsäuren, den Gehalt an freien Fettsäuren und — soweit die Proben dazu ausreichten — die Jodzahl und die Refraktion der Fettsäuren bestimmten. Außerdem nahmen wir zahlreiche papierchromatographische Untersuchungen der extrahierten Fettsäuren vor.

Den *Gesamtfettsäuregehalt* bestimmten wir nach dem Verfahren von VAN DE KAMER, TEN BOKKEL HUTINK u. WEYERS, wobei das zerkleinerte Gewebe durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge hydrolysiert wird. Nach dem Erkalten und Ansäuern werden die Fettsäuren mit Petroläther extrahiert und acidimetrisch bestimmt.

Die Menge der *freien Fettsäuren* wurde ebenfalls auf acidimetrischem Wege ermittelt. Das Material wurde mit gegluhtem Sand im Morser zerrieben (Uterusgewebe wurde vorher im Starmix zerkleinert) und dann nach Versetzen mit Alkohol und Ansäuern mit Petroläther ausgeschüttelt und im Extrakt der Fettsäuregehalt bestimmt.

Die *Jodzahlbestimmung* führten wir nach dem Verfahren von TRAPPE (einer Modifikation des Verfahrens von KAUFMANN) durch. Hierbei werden Milligramm-mengen von Fett bzw. Fettsäuren nach Lösung in Chloroform mit einem Bromreagens zusammengebracht, der Bromverbrauch jodometrisch bestimmt und daraus die „Jodzahl“ berechnet. (Arbeitsvorschrift s. bei HINSBERG u. LANG.) Das Verfahren hat sich bei uns gut bewährt. Um den Wägefehler möglichst klein zu halten, wogen wir die Fettsäureproben auf kleinen Glasscherben ein, die schon längere Zeit vorher in das Gehäuse der Waage verbracht worden waren.

Die *Refraktionsmessung* nahmen wir mit dem Abbéschen Refraktometer von Zeiß vor. Das Gerät wurde mit Hilfe eines Thermostaten auf 70°C gebracht.

Die *papierchromatographischen Untersuchungen* führten wir nach Vorversuchen mit den Verfahren von MICHEL u. SCHWEPPE und von HOLASEK u. WINSAUER nach

dem Verfahren von KAUFMANN u. NITSCH durch. Hierbei werden die Fettsäuren auf ein mit Petroleum (Fraktion mit Siedepunkt 190–200°/760 mm) getränktes Papier (Schleicher & Schüll 2043 b H) gebracht, das dann in ein 90%iges Eisessig-Wassergemisch, das mit dem Kohlenwasserstoff gesättigt ist, eingehängt wird. Mit diesem Verfahren lassen sich die Fettsäuren mit 14–20 C-Atomen gut trennen. Sie werden nach Trocknung des Papiers durch Behandeln mit Kupferacetat- und Kaliumferrocyanidlösung zur Darstellung gebracht.

Bei unseren Untersuchungen über das *postmortale Verhalten der Fettsäuren* fanden wir im *Lebergewebe* regelmäßig von Anfang an freie Fettsäuren, die etwa 10% der Gesamtfettsäuren (2–3 g-%) ausmachten. Da aber die erste Bestimmung meist erst am Tage nach dem Tode erfolgen konnte und nachdem eine rasche Zunahme der freien Fettsäuren festzustellen war, ist es als wahrscheinlich zu bezeichnen, daß in vivo keine freien Fettsäuren oder doch nur ganz geringe Mengen davon vorliegen. Auffallenderweise nahm nun nicht nur die Menge an freien Fettsäuren zu, was mit einer postmortalen Fett- und Lipoidspaltung leicht zu erklären wäre, sondern auch der Gesamtfettsäuregehalt stieg innerhalb der Beobachtungszeit von 4–8 Wochen ziemlich regelmäßig bis zu 63% über den Ausgangswert. Dieser Befund ist auf eine *Neubildung von Fettsäuren* (aus Eiweiß) zurückzuführen, denn wenn er durch eine Spaltung langkettiger (ungesättigter) Fettsäuren in kurzkettige unter der Einwirkung von Mikroorganismen (woran BIANCHINI gedacht hat) zustande gekommen wäre, so wäre ein deutliches Absinken der Jodzahl (80–100) zu erwarten gewesen, was aber nicht der Fall war. Auch hätte man das Auftreten größerer Mengen von niederen Fettsäuren an einer Änderung des Geruches der Extrakte erkennen müssen, die ebenfalls nicht eintrat.

Bei den Versuchen mit *Uterusgewebe* war nur in 3 von 9 Fällen ein Ansteigen der Gesamtfettsäurewerte festzustellen. In den anderen Fällen blieben die Werte ziemlich konstant oder nahmen sogar etwas ab. Zum Unterschied von den Versuchen mit Lebergewebe sanken die Jodzahlen in dem Beobachtungszeitraum von 4–5 Wochen fast in allen Fällen mehr oder weniger deutlich (von Ausgangswerten um 100 auf Endwerte um 60) ab. Dies führen wir darauf zurück, daß das Uterusgewebe (mit einer Ausnahme) zu Beginn der Versuchsreihen im Starmix zerkleinert werden mußte, weil sonst bei der jeweiligen Probenentnahme zu große Verluste entstanden wären und das Material zu schnell verbraucht worden wäre. An dem zerkleinerten Material konnte aber der Luftsauerstoff eher einwirken, so daß es zu Oxydationen ungesättigter Verbindungen kam. In dem einen Fall, in dem genügend Material zur Verfügung stand, so daß der Uterus während der Versuchsdauer im Ganzen belassen werden konnte, sank dementsprechend die Jodzahl nicht ab.

Auch im Uterusgewebe waren *freie Fettsäuren* bereits bei der ersten Untersuchung *stets* nachweisbar. Sie betrugen 5–10% des Gesamtfettsäuregehaltes, den wir als Mittelwert aus 29 Fällen mit 0,68 g-%

bestimmen. Die freien Fettsäuren vermehrten sich stets mit zunehmender Fäulnis und erreichten bis zu 80% des Gesamtfettsäuregehaltes (bei der Leber sogar 100%).

Einen Anstieg der freien Fettsäuren fanden wir auch bei Versuchen mit Blut und in Einzelversuchen mit anderen Organen. Das *Vorhandensein freier Fettsäuren* in Blut oder Organmaterial läßt somit *nicht ohne weiteres den Rückschluß auf das Vorhandensein von Seife* zu, doch kann man nach unseren Erfahrungen bei genügend frischem Material *eine Menge an freien Fettsäuren, die 10% der Gesamtfettsäuren übersteigt, als wichtigen Hinweis auf Seife ansehen*, insbesondere dann, wenn der Gesamtfettsäuregehalt über 0,8% liegt (lediglich bei der Leber ist zu beachten, daß der Normalwert schon über 2% liegt). Die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um Seifenfettsäuren handelt, ist um so größer, je höher der Prozentsatz an freien Fettsäuren ist. Die Bestimmung der Jodzahl kann diese Schlußfolgerung erhärten, denn diese liegt bei den Fettsäuren des Uterusgewebes nach unseren Untersuchungen zwischen 90 und 100, bei Blut über 100, bei den Seifenfettsäuren dagegen meist unter 70 (vgl. auch FRANK).

Die refraktometrischen Bestimmungen und die papierchromatographischen Untersuchungen ergaben *keine* für die Diagnostik des Seifenaborts bzw. der Seifenintoxikation verwertbaren Befunde.

Der Nachweis von Waschmitteln

Zur Fruchtabtreibung durch Laien werden vor allem Kernseifenlösungen, seltener Schmier-, Toilette- und Sagrotanseifenlösungen benutzt. Waschmittellösungen spielen nur eine untergeordnete Rolle. Auch in der Literatur ist nur vereinzelt von Abtreibungsfällen mit Waschmitteln (Persil) berichtet worden (DIERKS, BICKENBACH, FRITZ). Weil aber damit gerechnet werden muß, daß auch solche Stoffe zur kriminellen Schwangerschaftsunterbrechung Verwendung finden, führten wir zusammen mit H. LEIPOLD Untersuchungen über die Nachweisbarkeit der neuerdings sehr verbreiteten sog. *waschaktiven Substanzen* (die uns die Firma Henkel & Cie, Düsseldorf, freundlicherweise zur Verfügung stellte) in Mischungen mit Blut aus.

Es würde zu weit führen, hier die verschiedenen Nachweismethoden für waschaktive Substanzen zu referieren (vgl. WURZSCHMITT, STUPEL, HEMPEL u. HINTERMAYER). Die Substanzen werden nach ihrer chemischen Struktur in anionaktive, kationaktive und nichtionogene Stoffe eingeteilt, von denen bei den handelsüblichen Waschmitteln anscheinend fast nur die anionaktiven Stoffe in Gebrauch sind. Wir führten unsere Versuche mit 3 Hauptvertretern dieser Gruppe, einem Alkylbenzolsulfonat (Marlon), einem Alkylsulfonat (Mersolat) und einem Alkylsulfat (Fewa) durch und prüften folgende Reaktionen, die mit allen 3 Stoffen positiv ausfallen:

1. *Zusatz von Trypaflavin* (HINTERMAIER). Hierbei ergibt sich eine starke Trübung, die beim tropfenweisen Zusatz der 0,25%igen Trypaflavinlösung schlierenartig nach unten sinkt und hitzebeständig ist. Sie ist bei allen 3 Stoffen bis zu Verdünnungen von 1:2000 zu beobachten.

2. *Zusatz von konzentrierter Natronlauge*. Auch hierbei kommt eine weißliche Trübung zustande, die bis zu Verdünnungen von 1:2000 erkennbar ist. Beim Erhitzen löst sich der Niederschlag und tritt nach dem Erkalten wieder in Erscheinung.

3. *Zusatz von Bariumchlorid in 10%iger Lösung*. Wie bei den beiden anderen Reaktionen handelt es sich um eine Fällungsreaktion, die ebenfalls bis zu Verdünnungen von 1:2000 positiv ausfällt. Der Niederschlag löst sich in der Wärme nicht.

Auf Grund von zahlreichen Versuchen, bei denen wir die Erfahrungen von HINTERMAIER berücksichtigten, wonach die waschaktiven Substanzen durch Kochen mit Alkohol keine Veränderungen erleiden und sich besonders gut mit Äther extrahieren lassen, halten wir folgende *Extraktionsmethode* als am meisten geeignet:

5 ml Blut werden mit 40 ml Alkohol versetzt, 1 Std im Rückflußkühler auf dem Wasserbad gekocht und dann heiß filtriert. Nach dem Erkalten werden 40 ml destilliertes Wasser zugefügt, mit Lauge alkalisiert und mehrmals mit Äther extrahiert. Der Äther wird nach mehrfachem Waschen mit destilliertem Wasser eingedampft und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Bei diesem Vorgehen konnten etwa 10—20% der zugesetzten Menge an waschaktiver Substanz wiedergewonnen werden.

Selbstverständlich führten wir auch mit Hilfe von 25 verschiedenen Frisch- und Leichenblutproben Leerversuche durch. Hierbei blieb die Bariumchloridreaktion in allen Fällen negativ. Bei Zusatz von Natronlauge trat dagegen mitunter eine leichte Trübung auf, die sich jedoch in der Hitze nicht löste und daher durch heißes Filtrieren beseitigt werden konnte. Auch bei Trypaflavinzugabe war manchmal eine schwache Trübung festzustellen, die aber zum Unterschied von der durch die waschaktiven Substanzen bedingten Trübung beim Erwärmen schwand.

Bei der Untersuchung auf Reste von Waschmitteln ist im übrigen zu berücksichtigen, daß diese teilweise überhaupt keine Seifen enthalten, so daß negative Befunde in dieser Richtung das Vorhandensein von Waschmitteln nicht ausschließen. Zahlreiche Waschmittel reagieren neutral, so daß das Fehlen einer alkalischen Reaktion nichts besagt. Beachtenswert ist, daß die meisten Waschmittel reich an Zusätzen verschiedener Art sind und vor allem häufig Glaubersalz enthalten, das durch eine stark positive Bariumfällung im enteweißten Filtrat einer verdächtigen Probe angezeigt wird. In solchen Fällen ist schließlich auch an die bereits oben erwähnte Borsäurereaktion (nach Veraschen) zu denken, da häufig Borate den Waschmitteln zugesetzt sind.

Die histochemische Unterscheidung von Fetten, Fettsäuren und Seifen

Die Möglichkeiten der Darstellung und Differenzierung von Fetten, Lipoiden, Fettsäuren und Seifen im mikroskopischen Präparat mit Hilfe von Färbemethoden sind relativ gering. Die erste Schwierigkeit liegt bereits darin, daß bei weitem nicht alle im Gewebe vorhandenen Fette und Lipide färberisch nachweisbar sind. In den mikroskopischen, mit Fettfärbemethoden behandelten Schnitten gesunder Organe ist im allgemeinen im Parenchym kein „Fett“ zu finden, obwohl bei der Extraktion stets Neutralfett und Lipide zum Vorschein kommen. Mengenmäßig sind diese Stoffe allerdings gering. Sie betragen meist nur wenige Prozent. Die

höchsten Werte weist, abgesehen vom Gehirn, die Leber auf (Gesamtfettgehalt der Leber im Mittel etwa 4%, der Lunge 1,2%, der Milz 1,6%, der Niere 2%, des Uterus 0,7–1%, der Placenta 1,3%). Bei *Leberverfettungen* ist der Fettgehalt erhöht. Bei unseren Untersuchungen fanden wir im Gegensatz zu ROMEIS eine gute Übereinstimmung zwischen *Fettsäuregehalt* und Grad der „Verfettung“. Bis 2,5 g-% war mikroskopisch in den Leberzellen kein Fett zu finden, mäßig starke Verfettungen bestanden bei Werten um 5 g-%, starke Verfettungen bei Werten über 7 g-%.

Beim histochemischen Fettnachweis ist aber auch der Einfluß zu berücksichtigen, den die *Fixierung* auf die Fettstoffe ausüben kann. Nach HAMMAR, LISON, ZEIGER, ROMEIS, CECCALDI, GEDIGK soll die vielverwendete Formalinlösung nicht nur verändernd, sondern auch lösend auf Fettstoffe einwirken. Die Durchsicht der einschlägigen Literatur zeigte allerdings, daß die Untersuchungsergebnisse in diesem Punkt nicht ganz eindeutig sind. Nach der *Fixierung* von Gehirn- bzw. Lebergewebe haben zwar z. B. KIMMELSTIEL sowie MLADENOVIC u. LIEB ganz beträchtliche Abnahmen des Lipoidgehaltes festgestellt, jedoch konnten in der Formalinlösung nur Bruchteile der verlorengegangenen Lipide wiedergefunden werden. Es dürfte sich somit nicht so sehr um eine Herauslösung der Lipide als vielmehr um eine Verschlechterung der Extrahierbarkeit infolge der Fixierung gehandelt haben. Andere Autoren hatten denn auch bei ihren Versuchen wesentlich geringere Verluste. Während KIMMELSTIEL eine Verringerung der Phosphatide bei der Formalinfixierung von Gehirnen von Meerschweinchen und Kaninchen nach 14 Tagen um 30% und MLADENOVIC u. LIEB Neutralfettverluste bei der Fixierung von Lebergewebe (Dauer nicht angegeben) um 30–50% feststellten, fanden BLOOM u. KERN bei einem Fall von lipoidzelliger Splenomegalie nur eine Abnahme der ätherlöslichen Lipidanteile um 6,7%, der alkohollöslichen um 11,8%. BRANTE beobachtete bei der Formalinfixierung von Rindergehirnen eine Abnahme des Lipidgehaltes nach 60 Tagen um etwa 10%.

Wegen der stark voneinander abweichenden Literaturangaben über den *Einfluß der Formalinfixierung auf den Fettgehalt* der Organe und da Untersuchungsergebnisse an gesunden Organen außer an Gehirnen praktisch fehlten (lediglich MLADENOVIC u. LIEB führten 3 Untersuchungen mit Lebergewebe durch), haben wir zusammen mit ERMANN Versuche zu dieser Frage durchgeführt, wobei wir, um Fehler durch Veränderungen der Löslichkeit zu vermeiden, die Organe in alkoholischer Kalilauge verkochten und den Fettsäuregehalt nach Extraktion mit Petroläther acidimetrisch bestimmten. Wir untersuchten insgesamt 74 Organe (18 Lebern, 15 Milzen, 15 Lungen, 15 Nieren und 11 Uteri) in einem Zeitraum bis zu 180 Tagen. Dabei ergab sich fast regelmäßig ein leichtes Absinken der Fettsäurewerte, das bei der Leber nach 2 Tagen 2,6%, nach 60–180 Tagen 6,6%, bei der Milz nach 2 Tagen 5,8%, nach 60–180 Tagen 6,8%, bei der Lunge nach 2 Tagen 9%, nach 60–180 Tagen 3,8%, bei der Niere nach 2 Tagen 4,1%, nach 60–80 Tagen 7,3% und beim Uterus nach 2 Tagen 6,6%, nach 60–180 Tagen 2,9% betrug. Dieser Überblick über die durchschnittlichen Veränderungen der Fettsäurewerte zeigt, daß das Absinken der Werte im wesentlichen bereits innerhalb der beiden ersten Tage stattfindet und später nicht mehr erheblich zunimmt. Deshalb war daran zu denken, daß diese Verände-

rungen nur scheinbare sind, bedingt durch Gewichts- bzw. Volumenänderungen bei der Fixierung. Wir untersuchten daher je 4 Organstückchen von Leber, Lunge, Milz, Niere und Uterus, wobei wir jeweils verschieden große Teile nahmen, deren Gewicht 4—28 g betrug. Es zeigte sich nach 2tägiger Formalinfixierung bei der Leber eine Gewichtsänderung im Mittel um -4.2% , bei der Lunge um -1.5% , bei der Milz um -2.7% , bei der Niere um -3.5% und beim Uterus um $+2.0\%$. Die Gewichtsverminderung (außer beim Uterus) dürfte auf Flüssigkeitsverlust bei der Fixierung zurückzuführen sein. Aus diesen Befunden kann abgeleitet werden, daß die Abnahmen des Fettsäuregehaltes bei der Fixierung keine scheinbaren, sondern tatsächliche sind, die sogar noch um wenige Prozent höher liegen als aus den Ergebnissen der Fettsäurebestimmungen zu errechnen war.

Wir können somit feststellen, daß bei der Formalinfixierung leichte Fettverluste stattfinden, auch bei Organen, die mikroskopisch nicht verfettet erscheinen. Mikroskopisch sichtbares Fett, wie z. B. bei Fettembolie der Lungen, löst sich in der ersten Zeit der Formalinfixierung nicht in erheblicher Menge heraus, wie wir bei vergleichenden Untersuchungen von Gefrierschnitten, die kurze Zeit nach dem Tode und solchen (von denselben Fällen), die erst nach Wochen bis Monaten angefertigt wurden, feststellen konnten.

Neben der Herauslösung von Fettstoffen ist auch mit einer Veränderung unter dem Einfluß der Fixierung zu rechnen. Hierauf weisen die Befunde von MILLOT u. GILBERTON und DOLFINI hin, daß während der Formalinfixierung eine Vermehrung der Fischler-positiven Fettstoffe stattfindet. Wenn auch diese Befunde allein nicht das Auftreten von freien Fettsäuren und damit eine Fettspaltung beweisen, weil nach den Feststellungen von KAUFMANN u. LEHMANN und LISON die Fischlersche Reaktion nicht nur mit Fettsäuren positiv verläuft, so spricht doch auch die Beobachtung von BOEMINGHAUS für das Auftreten von freien Fettsäuren während der Fixierung. Er stellte fest, daß Fette, die sich mit Nilblausulfat zunächst rosa (wie Neutralfett) färbten, nach mehrwöchiger Fixierung blau (wie Fettsäuren) anfärbten. In gleicher Weise lassen sich auch die Befunde DA ROCHA-LIMAS über das Verhalten der Ciaccio-positiven Stoffe auslegen. Die ursprünglich fälschlich für Lipide als spezifisch erachtete Reaktion von CIACCIO verläuft nach den Feststellungen von KAUFMANN u. LEHMANN mit allen Stoffen positiv, die eine ungesättigte Fettsäure enthalten, sofern sie nach Chromierung ihre Löslichkeit für fettlösliche Mittel verlieren. (LISON hat offenbar infolge eines Mißverständnisses bei der Übersetzung von DA ROCHA-LIMAS Arbeit die Ansicht vertreten, daß sich die Neutralfette in der Formalinlösung in Lipide umlagern können.)

Unter den Methoden zum histochemischen Nachweis von Neutralfetten, Fettsäuren und Seifen prüften wir folgende: 1. Die Färbung mit Sudan III, 2. mit Sudan IV (Scharlachrot), 3. mit Sudanschwarz B, 4. mit Chlorophyll, 5. mit Nilblausulfat, 6. nach FISCHLER, 7. auf enzymatischem Wege, 8. nach ROMEIS und 9. nach LAZZARINI.

Bei den Versuchen brachten wir die Substanzen auf entfettetes Filtrierpapier. Soweit sie nicht bei Zimmertemperatur flüssig waren, wurden sie vorher auf einer

Tabelle 1

	Sudan III	Sudan IV (Schar- lach- rot)	Sudan- schwarz B	Chlo- ro- phyll	Nilblau- sulfat	Fischer	Eigen- fluo- rescenz	Fluorescenz mit		
								Rhod- amin B	Phos- phin 3R	Ph ph
<i>Gesättigte Fettsäuren</i>										
Buttersäure C ₄ . .	—	—	—	—	—		ganz schwach bläulich	++	—	(—)
Capronsäure C ₆ . .	—	—	—	—	—		—	++	—	[(—)]
Caprylsäure C ₈ . .	—	—	—	—	—		—	++	—	(—)
Caprinsäure C ₁₀ . .	—	—	—	—	—		—	—	—	—
Laurinsäure C ₁₂ . .	—	—	—	—	—	+	—	+	+	(—)
Myristinsäure C ₁₄ .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Palmitinsäure C ₁₆ .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stearinsäure C ₁₈ .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Ungesättigte Fettsäuren</i>										
Ölsäure	+	(+)			+++ (tief- blau)	+	—	++	+	+
	lachs— orange- rot									
Erucasäure . . .	+	+			+	+	schwach bläulich	+	(+)	[(—)]
	(orange)				(blau- blau violett)					
Linolsäure	+	+			(+)	+	—	+	—	[(—)]
	(orange)				schwach rosa					
Linolensäure . . .	(+)	[(+)]			+	+	ganz schwach bläulich	+	—	[(—)]
	(lachs- rot)				(blau- violett)					

Die reinen (fettfreien) Natrium- und Kaliumsalze aller aufgeführten Fettsäuren verhalten
wie die Fettsäuren selbst

<i>Seifen</i>										
Sapo medicatus .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Dalli-Kernseife . .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		+++ bläulich weiß			
Luhns Barmenia- Kernseife . . .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		++ (bläulich weiß)			
Edelkernseife . . .	+	+	+	+	++		++ (bläulich weiß)			
Braune Kernseife .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Sunlicht-Kernseife	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Ölseife Marseille .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Dreiring-Kernseife	(+)	(+)	(+)	(+)	++		++ (bläulich weiß)			
Edelmann-Kernseife	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Flammer-Kernseife	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Palmenölseife . . .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Luhns Antuka . . .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
Dirndl-Kernseife .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	Sudan III	Sudan IV (Schar- lach- rot)	Sudan- schwarz B	Chlo- ro- phyll	Nilblau- sulfat	Fisch- ler	Eigen- fluo- rescenz	Fluorescenz mit		
								Rhod- amin B	Phos- phin 3 R	Phos- phin
<i>Seifen</i>										
luxor-Feinseife . .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		++ (bläulich weiß)			
arta-Feinseife . .	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
almolive-Feinseife	(+)	(+)	(+)	(+)	++		—			
<i>Reinigungsmittel</i>										
ewa			—	—	+		[(+)] (bläu- lich)			
amil	—	—	—	(+)	(+)					
ei	—	—	—	—	+					
il	—	—	—	—	+					
atriumalkyl- benzolsulfonat (Henkel)	—	—	—	—	+		[(+)] (bläu- lich)	+	—	—
atriumalkyl- sulfonat (Henkel)	—	—	—	—	+		—	+	—	[(+)]
atriumalkylsulfat (Henkel)	—	—	—	—	+		—	(+)	—	—
atina	—	—	—	—	+		—			
<i>Hydrierende</i>										
ipalmitin	—	—	—	—	—		—	—	—	—
istearin	—	—	—	—	—		—	—	—	—
iolein	++	++	++	+	++ (rosarot)		—	+	+	+
enschliches Bauchfett	++	++	++	+	++ (rosarot)		— (insehr dicker Schicht gelblich)	+	+	+
hweinefett . . .	++	++	++	+	++ (rosarot)		—	+	+	+
nderfett	++	++	++	+	++ (rosarot)		—	+	+	+

Heizplatte in die Filtrierpapierchen eingeschmolzen. Wegen Fehler durch Lösungsmittel (vgl. LENNERT u. WEITZEL) wurde vom Aufbringen der Stoffe in gelöster Form abgesehen. Auch auf die Verwendung von entfettetem Holundermark (KAUFMANN u. LEHMANN) anstelle von Filtrierpapier haben wir auf Grund der Erfahrungen von LENNERT u. WEITZEL, wonach sich in den Maschen des Holundermarks bei festen kristallisierten Stoffen Farbstoff ablagern und eine positive Reaktion vortäuschen kann, verzichtet.

Die Versuche wurden streng nach den Färbvorschriften (ROMEIS) vorgenommen. (Ergebnisse vgl. Tabelle.) Bei zahlreichen Substanzen wurde auch die Eigenfluorescenz im filtrierte ultravioletten Licht und die Fluorescenz mit Rhodamin B, Phosphin 3 R und Phosphin E geprüft.

1. Sudan III

Die Sudanfarbstoffe sollen praktisch alle im Körper vorkommenden Fettarten färben (ROMEIS). Nach CECALDI soll Sudan III mit Trioleinen („trioléines“ — gemeint sind wohl Triolein selbst und vorwiegend Triolein enthaltende Fette) ringförmig gefärbte Tropfen, mit anderen Fetten dagegen eine massive Anfärbung ergeben, was wir nicht bestätigen können. Eine derartige Erscheinung sahen wir dagegen bei Versuchen mit einzelnen Fettsäuren (z. B. Myristin- und Palmitinsäure). Unterschiede im Farbton waren nur vereinzelt festzustellen; meist farbten sich die Stoffe orange an, lediglich Ölsäure und besonders Erucasäure (nicht aber Linol- und Linolensäure) ergaben einen roten Farbton.

Die Feststellungen von KAUFMANN u. LEHMANN und LENNERT u. WEITZEL, die in einigen Punkten voneinander abweichen, decken sich nicht vollständig mit unseren. So hatten LENNERT u. WEITZEL weder mit gesättigten noch mit ungesättigten Fettsäuren positive Befunde bei der Färbung mit Sudan III. KAUFMANN u. LEHMANN gaben dagegen positive Befunde mit Capron-, Myristin- und Cerotinsäure sowie mit allen ungesättigten Fettsäuren an. Bei unseren Versuchen reagierten die gesättigten Fettsäuren nicht mit Sudan III, von den ungesättigten farbten sich Öl-, Linol- und Erucasäure deutlich, Linolensäure schwach an. Zum Unterschied von ihrem Verhalten bei der Färbung mit Nilblausulfat (s. unten) farbten sich unter den gesättigten Fettsäuren *in der Wärme* (60° C) *nur Stearinsäure*, in geringem Maß auch Palmitinsäure, nicht aber die anderen Säuren an. *Tripalmitin und Tristearin farbten sich mit Sudan III bei Zimmertemperatur nicht, sie nahmen aber den Farbstoff bei 60° C an.*

Die Beobachtung, daß es Fettstoffe gibt, die sich mit Sudanfarbstoffen erst in der Wärme anfärben, wurde schon von HOLLE bei der Untersuchung von Atheromatoseherden in der Aorta und auf Anregung von E. MÜLLER von LAGARIE in Coronarskleroseherden gemacht. Dieses eigenartige farberische Verhalten wurde auf das Vorhandensein von Gemischen aus Fett, Fettsäuren und Lipoiden mit relativ hohem Schmelzpunkt zurückgeführt.

Seifen verhielten sich bei unseren Versuchen wie die entsprechenden Fettsäuren. Es reagierten also nur die Natrium- und Kaliumsalze der ungesättigten Fettsäuren positiv. Allerdings ist die von FISCHLER (1903) getroffene Feststellung für die Unterscheidung von Fetten und Seifen von Bedeutung, daß sich Seifen mit Sudan nur blaß anfärben und daß sich Sudan-Seifengemische in 70%igem Alkohol sofort lösen, während der Farbstoff aus Fetten auch nach Tagen nicht herausgelöst wird.

2. Sudan IV (Scharlachrot)

Dieser Farbstoff soll nach KAY-WHITEHEAD die echten Fette (Neutralfette) elektiv anfärben, was jedoch mit unseren Befunden nicht ganz übereinstimmt. Einen deutlich positiven Befund erhielten wir auch mit Erucasäure und schwach positive Befunde mit Öl-, Linol- und Linolensäure, in der Wärme (60° C) auch mit Stearinsäure. Glyceride färben sich tiefrot und wesentlich intensiver als mit Sudan III. Die Färbung verblaßt zum Unterschied von derjenigen mit Sudan III auch nach wochenlangem Stehen im Tageslicht nicht, weshalb das Sudan IV (Scharlachrot) dem Sudan III vorzuziehen ist.

3. Sudanschwarz B

Dem Sudanschwarz B wird eine besonders scharfe und vollständige Darstellung der Fettstoffe zugeschrieben (LISON). Dies können wir nicht bestätigen. Abgesehen davon, daß die Differenzierung von schwarzen Pigmenten (anthrakotisches Pigment, Formolpigment) Schwierigkeiten bereitet und die Auffindung rotgefärbter Stoffe rascher gelingt, konnten wir nicht feststellen, daß die Färbung mit Sudanschwarz vollständiger als mit roten Sudanfarbstoffen ist, sondern eher das Gegenteil.

Von anderen Autoren wurde angegeben, daß Sudanschwarz spezifisch für die (vorwiegend flüssigen) ungesättigten Fettsäuren sein solle (vgl. ECCALDI). Wie CAIN nachgewiesen hat, ist aber nicht das Vorhandensein einer Doppelbindung, sondern die flüssige Konsistenz, die nicht immer mit Doppelbindungen vergesellschaftet ist, entscheidend für die positive Reaktion.

4. Chlorophyll

Chlorophyll soll alle Fettstoffe anfärben (ROMEIS). Wir hatten jedoch keine befriedigenden Resultate, weder bei der Verwendung von Reinsubstanzen, noch im Schnitt. Auch die Intensität der Färbung war nur relativ gering.

5. Nilblausulfat

Dieser 1907 von LORRAIN SMITH in die histologische Technik eingeführte Farbstoff soll Neutralfette rosarot, Fettsäuren und Phospholipoide blau anfärben. Mehrfach wurde jedoch berichtet, daß sich nur ungesättigte Glyceride (wobei vor allem das Triolein gemeint ist) damit rosarot anfärben. LENNERT u. WEITZEL stellten neuerdings fest, daß nicht nur ungesättigte Neutralfette, sondern alle bei Zimmertemperatur *flüssigen* Fettsäureverbindungen (Äthylester, Glyceride, Wachse) mit Nilblausulfat *rosa bis orangerote* Färbungen ergeben. Ebenso wie beim Sudanschwarz ist auch beim Nilblausulfat nicht das Vorhandensein von Doppelbindungen, sondern die flüssige Konsistenz für den positiven Ausfall der Färbung von Fettsäuren maßgebend. Dies haben unabhängig voneinander CAIN und LENNERT u. WEITZEL mitgeteilt. Bei der Durchsicht der Tabellen von LENNERT u. WEITZEL fiel uns nun auf, daß auch die halbfesten Fettsäuren mit 10 und 11 C-Atomen und sogar die bei Zimmertemperatur *festen* Fettsäuren mit 12 und 13 C-Atomen mit Nilblausulfat reagieren. Wir folgerten daraus, daß der Schmelzpunkt dieser Stoffe noch nicht erreicht sein muß, um eine positive Reaktion mit Nilblausulfat zu erhalten und vermuteten, daß auch höhere Fettsäuren anfärbbar sind, wenn die Temperatur der Farblösung erhöht wird. Bei unseren Versuchen ergab sich dementsprechend eine deutliche Färbung weit unter dem Schmelzpunkt der Fettsäuren. Laurinsäure (Fp 44°) färbte sich ab 36°, Myristinsäure (Fp 54°) ab 46°, Palmitinsäure (Fp 63°)

ab 53° und Stearinsäure (Fp 70°) ab 61° mit Nilblausulfat an. Hieraus ist der Schluß zu ziehen, daß sich die Fettsäuren bereits dann anfärben, wenn sie *erweicht* sind, nicht erst dann, wenn sie völlig flüssig sind. Auch die bei Zimmertemperatur festen Triglyceride Tripalmitin und Tristearin nahmen bereits etwa 10° unter ihrem Schmelzpunkt den Farbstoff an. Sie färbten sich zum Unterschied von Triolein nicht rosarot, sondern violett an.

Diese Feststellungen sind für den *Nachweis von Seifen* insofern von Bedeutung, als die Möglichkeit besteht, durch Färbung mit Nilblausulfat sowohl in der Kälte als auch in der Wärme das Vorhandensein von Fettsäuren bzw. Seifen im Gewebe zu erkennen. Von diesem Vorzug abgesehen ist jedoch die Nilblausulfatreaktion zur Fettdarstellung den roten Sudanfarbstoffen unterlegen.

6. Die Methode von FISCHLER

Das Prinzip dieser Methode ist eine Kupferseifenbildung bei der Einwirkung von Kupferacetat auf Fettsäuren und die Entwicklung eines schwarzen Farblackes mit Hämatoxylin. Die zunächst als spezifisch für Fettsäuren erachtete Methode reagiert nach den Feststellungen von KAUFMANN u. LEHMANN nicht mit allen Fettsäuren, wird aber andererseits mit Fettgemischen positiv, die keine freien Fettsäuren enthalten. LISON spricht der Methode jede histochemische Bedeutung ab. LENNERT u. WEITZEL hatten bei ihren Versuchen mit gesättigten und ungesättigten Fettsäuren und Seifen *meist* ein positives, in allen anderen Fällen dagegen (mit Estern, Lipoiden, Cholesterin, Cholesterinestern, Wachsen) ein negatives Ergebnis.

In unseren Fällen, in denen sudanpositive Ablagerungen im schwangeren Uterus nach Seifenwassereinspritzung zu finden waren, erhielten wir nie gleichstarke, manchmal nur ganz gering positive Befunde nach FISCHLER, was damit zu erklären ist, daß es sich bei diesen Ablagerungen überwiegend um neu gebildetes Fett handelt, wie wir oben eingehend auseinandergesetzt haben. Damit wird jedoch die Fischlersche Reaktion für den Nachweis einer Seifeneinwirkung nicht wertlos, denn ihr positiver Ausfall zeigt das Vorhandensein von freien Fettsäuren bzw. Seifen an. Störend wirkt aber die Tatsache, daß bei Autolyse und Fäulnis Fischler-positive Stoffe unabhängig vom Vorhandensein von mikroskopisch sichtbarem Fett in Erscheinung treten, wobei es sich wohl um freie Fettsäuren handelt, deren Auftreten weiter oben besprochen wurde.

7. Enzymatischer Fettnachweis

Nach WASICKY u. AMARANT kann man Fette durch mehrstündige Inkubation mit Pankreatin (Merck) bei 37° nachweisen. Die höheren gesättigten Fettsäuren kristallisieren danach in Nadeln aus, die ungesättigten scheiden sich in Form von Tröpfchen ab. Sie sind in 96%igem Alkohol löslich, bilden mit Natriumcarbonat Myelinfiguren, lassen sich nach Zusatz von Kalkwasser als Kalkseifen mit kantigen und rundlichen

Vorsprüngen an den Fetttröpfchen erkennen, welche nach Zugabe von 50%iger Schwefelsäure Calciumsulfatnadeln bilden. Ferner kann man sie mit Kupferacetat als blaue Kupferseifen zur Darstellung bringen. Nach unseren Erfahrungen ist die Methode (wie alle Fermentreaktionen) von der Güte des Ferments abhängig, die vorher zu prüfen ist. Die Empfindlichkeit ist geringer als beim Fettnachweis mit roten Sudanfarbstoffen.

Speziell für den *Seifennachweis* findet man in der Literatur nur 2 Methoden, die von ROMEIS und die von LAZZARINI.

8. Die Methode von ROMEIS

Diese Methode ist im wesentlichen eine Modifikation der Fischlerschen Methode, die den Kern des Verfahrens bildet. Das Besondere ist die Art der Fixierung des Materials, die mit einer mit Calcium salicylicum gesättigten 10%igen Formalinlösung geschieht, womit erreicht werden soll, daß die Seifen als wasserunlösliche Kalkseifen gefällt werden. FEHMANN bezeichnete das Verfahren als ungeeignet für den histochemischen Seifennachweis. Dieser Ansicht können wir uns nicht anschließen. Wir halten die Sättigung des Formalins mit Calciumsalicylat für sehr zweckmäßig und verweisen im übrigen auf das, was über die Fischlersche Methode gesagt wurde.

9. Die Methode von LAZZARINI

Obwohl das Verfahren schon 1932 angegeben wurde, hat es in die Standardwerke der Histochemie keinen Eingang gefunden. Es beruht darauf, daß aus den getrockneten Schnitten mit Äther Fette und Fettsäuren, nicht dagegen Seifen herausgelöst werden. Daran anschließend wird die Osmiumreaktion, die vor der Einführung der Sudanfarbstoffe in die histologische Technik die Methode der Wahl zum Fettnachweis war, ausgeführt. Sie beruht auf der Reduktion des Osmiumtetroxyds zum Dioxyd, wobei eine Schwärzung zustande kommt, und hat das Vorhandensein von —C=C— -Doppelbindungen zur Voraussetzung. Mit gesättigten Fettsäuren bzw. Seifen tritt daher keine positive Reaktion ein. Da aber die handelsüblichen Seifen immer ungesättigte Verbindungen enthalten, müßte sich das Verfahren zum Seifennachweis eignen. Nach den Untersuchungen von FEHMANN ist dies auch der Fall, doch ist dieser Autor im wesentlichen in der Weise vorgegangen, daß er schon fertige Gewebsschnitte partiell in Seifenlösung tauchte und in einem entsprechenden Abschnitt eine positive Reaktion erhielt. Er erzielte allerdings auch einen positiven Befund mit der Bauchmuskulatur eines Kaninchens, bei dem Seifenlösung in der Bauchhöhle vorhanden war. Die Präparate wiesen einen schwärzlichen Saum an der der Bauchhöhle zugewandten Seite der Muskulatur auf. Innerhalb dieser Zone waren

keinerlei Zellstrukturen erkennbar, d. h., es handelte sich um eine Nekrosezone, in der eine Dissoziation der Seife, die man sonst im lebenden Gewebe annehmen muß (s. oben), wohl nicht mehr oder nur teilweise zustande kam. Der Wert einer speziellen Seifennachweismethode wie dieser ist deshalb (zum Unterschied von Fettsäurereaktionen) sehr fraglich. Wir konnten mit der Lazzarinischen Methode keine brauchbaren Ergebnisse erzielen, doch stand uns nur formalinfixiertes Material zur Verfügung, das aber von Seifenabortionen stammte und in welchem freie Fettsäuren vorhanden waren. Undissoziierte Seifen sind nur im nekrotischen Gewebe zu erwarten.

Kurz zu erwähnen ist noch die von ASCHOFF (1910) getroffene Feststellung, daß *Neutralrot* Glycerin- und Cholesterinester nicht, Seifen schwach gelb und freie Fettsäuren intensiv rot färbt. Auch Lecithin färbte sich intensiv rot, war darauf zurückgeführt wurde, daß es sich bereits etwas zersetzt hatte und freie Fettsäuren enthielt. Für den histochemischen Fettsäurenachweis hat das Verfahren wohl deshalb keine Bedeutung erlangt, weil sich eine Reihe anderer Substanzen (Nucleolen, Zentriolen, Cytoplasma, Kernsaft, kollagenes und elastisches Gewebe, oxyphile Granulationen usw.) mit *Neutralrot* rot färben.

Untersuchungen im polarisierten Licht

Die Unterscheidung von Neutralfetten und Lipoiden mit dem Polarisationsmikroskop ist nur insoweit möglich, als das Vorhandensein einer Doppelbrechung Neutralfett ausschließt, doch ist das Umgekehrte nicht der Fall. Nach Färbung mit Sudanfarbstoffen sind polarisationsmikroskopische Untersuchungen wertlos, nicht dagegen nach Nilblausulfatfärbung (LENNERT u. WELTZEL). Im übrigen ist zu bedenken, daß die Doppelbrechung auch durch die Fixierung verloren gehen kann.

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen

Wie die eingehenden Untersuchungen von HAMPERI (1934) gezeigt haben, lassen sich die im menschlichen Körper vorkommenden Fettstoffe durch Fluoreszenz-Mikroskopie nicht genügend unterscheiden. Neutralfette fluorescieren bald in verschiedenen Tönen, bald nicht. Doppelbrechende Lipide fluorescieren meist nicht, nur nichtdoppelbrechende Lipide fluorescieren ziemlich regelmäßig in gelber bis bräunlicher Farbe.

Bei unseren Versuchen mit *Fluoreszenzfarbstoffen* ergab sich, daß das Rhodamin B mit den Fetten, den ungesättigten Fettsäuren, mehreren gesättigten Fettsäuren und den waschaktiven Substanzen (vgl. Tabelle) positiv reagiert. Außer mit Fetten ergab Phosphin E mit den anderen Fettstoffen nur eine angedeutete Fluoreszenz, und Phosphin 3 R reagierte außer mit den Fetten nur mit Ölsäure und ganz schwach mit Erucasäure. Für die Differenzierung von Fettstoffen sind daher die genannten Farbstoffe nur von geringem Wert.

Untersuchungsgang bei Verdacht auf Seifeneinwirkung

Der Verdacht des Zusammenhanges des Todes mit einer Abtreibungshandlung ist bekanntlich bei jedem plötzlichen Todesfall einer Frau im gebärfähigen Alter gegeben. Die Aufgabe des Gerichtsmediziners erschöpft

sich nun nicht darin, die Todesursache festzustellen und allenfalls den Nachweis einer kriminellen Handlung zu erbringen, sondern sie sollte sich auch auf den Nachweis der Begleitumstände erstrecken. Zur Klärung der Art des Eingriffs ist daher ein planmäßiges Vorgehen zu empfehlen. Bei der eingangs erwähnten Häufigkeit von Seifeneinspritzungen ist das besondere Augenmerk auf den Nachweis einer Seifenwirkung auf die schwangere Gebärmutter oder den Organismus zu richten. Wir empfehlen dabei folgenden Untersuchungsgang:

A. Bei der Sektion:

- I. 1. Prüfung der Reaktion des Scheiden- und Uterusinhalts (getrennt);
2. Asservierung des gesamten flüssigen Scheiden- und Uterusinhalts, allenfalls sofortige Abtrennung bröcklicher Gebilde zur getrennten Untersuchung;
3. Geruchsprüfung (Parfum, Seifenlauge).
- II. 1. Nach genauer Protokollierung aller Befunde Fixierung von Teilen des Uterus, besonders aus dem Bereich der (gewöhnlich auch nach Ausstoßung der Frucht noch erkennbaren) Placentarhaftstelle in Formalinlösung, die *vorsorglich mit Calcium salicylicum zu sättigen ist*. Asservierung von Stückchen aus den inneren Organen, der Placenta, den Tuben und Ovarien in der gleichen Formalinlösung.
2. Asservierung von Blut, Mageninhalt und Urin, den restlichen Teilen von Uterus, Placenta sowie Teilen von Leber, Milz und Niere zu etwaigen anderweitigen toxikologischen Untersuchungen.

B. Im Laboratorium:

1. Untersuchung des Scheiden- bzw. Uterusinhalts auf *Seifenbestandteile*, vor allem Bestimmung des Gehaltes an *freien* und *Gesamtfettsäuren*. Werte über 1% Gesamtfettsäuren und (beim Fehlen von Fäulnisveränderungen) von mehr als 0,2% freien Fettsäuren zeigen das Vorhandensein von Seife an.
2. *Jodzahlbestimmung*. Die Jodzahl der extrahierten *freien* Fettsäuren muß niedrig (unter 80) liegen, wenn es sich um Seifenfettsäuren handelt.
3. *Titannachweis*. Das Vorhandensein von mehr als 20 γ-% Titan beweist die Anwesenheit eines körperfremden Stoffes. Da Titan unter den gebräuchlichen Abtreibungsmitteln nur in Seifen und Waschmitteln (als „Weißmacher“ in Form des Titandioxyds) vorkommt, ist es als weiterer Beweis für die Einbringung einer Seifen- bzw. Waschmittellösung zu werten.
4. Prüfung auf weitere *Nebenbestandteile* von Seifen und Waschmitteln (z. B. Glaubersalz, waschaktive Substanzen).
5. Untersuchung des *Blutes* auf *Methämoglobin* und *Hämatin*.
6. *Histologische und histochemische Untersuchung* der fixierten Organe (mit Hämatoxylin-Eosin, Hämatoxylin-Sudan IV (—Scharlachrot), Nilblausulfat (bei Zimmertemperatur und bei 60° C) und nach FISCHLER.

Bei der *Asservierung der Genitalorgane* zur chemischen Untersuchung ist fetthaltiges Beckenbindegewebe sorgfältig abzuräparieren, da sonst, besonders während der warmen Jahreszeit, die Gefahr besteht, daß sich über das Präparat ein Ölfilm ausbreitet, der infolge von fermentativen Spaltungsvorgängen reich an *freien Fettsäuren* sein kann. Da diese Fettsäuren von Depottfett herrühren, liegt ihre Jodzahl gewöhnlich relativ

niedrig (um 80) und kann infolge von Oxydationsvorgängen weiter absinken. Das Vorhandensein von freien Fettsäuren mit niedriger Jodzahl könnte in einem solchen Falle eine vorangegangene Seifenwassereinspritzung vortäuschen.

Wichtig ist auch die *Untersuchung von Instrumenten*, die am Tatort gefunden wurden, auf Reste der zur Fruchtabtreibung benützten Flüssigkeit. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß im Inneren von Gummispritzen angetrocknete Seifenreste durch Aufnahme von Calciumionen aus dem Gummi in wasserunlösliche Kalkseifen übergegangen sein können. Das Versagen der üblichen Reaktionen auf Seife in einem wäßrigen Extrakt des Spritzeninhalts schließt somit das Vorliegen von Seifenresten nicht aus. Es empfiehlt sich, verdünnte Salzsäure zu verwenden und die Lösung mit Petroläther zu extrahieren. Außer an und in Instrumenten ist auch an das Vorhandensein von Seifen Spuren in Schüsseln, im Bettzeug (Flecken) und Wäschestücken zu denken und die Untersuchung darauf auszudehnen.

Die Berücksichtigung der aufgezeigten Nachweismöglichkeiten dürfte dazu beitragen, die Feststellung einer Seifenintoxikation in künftigen Fällen zu erleichtern.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden wegen der bisherigen Schwierigkeiten beim exakten Nachweis einer vorangegangenen Seifenwassereinspritzung in die schwangere Gebärmutter unter Berücksichtigung unserer Erfahrungen bei der Bearbeitung von 31 einschlägigen Fällen und bei zahlreichen experimentellen Untersuchungen die Möglichkeiten zum Nachweis eines solchen Eingriffs zusammengestellt und neue Wege aufgezeigt. Es gelang uns der Nachweis, daß die früher (WEINIG u. SCHWERD 1951) beschriebenen *sudanpositiven Ablagerungen im Myometrium* nach Seifeninstillationen *im wesentlichen aus Fett* bestehen, das zum überwiegenden Teil aus den eingebrachten *Seifenfettsäuren synthetisiert* wurde. Diese Fettsynthese erfolgt zwar im Uterus als Organ, sie findet jedoch fast ausschließlich unter der Einwirkung der Lipase der Gefäßwände, des Blutes und der Lymphe statt, weil der Uterusmuskel selbst kaum Lipase aufweist. Die Fettablagerungen sind daher auch vorwiegend in Blut- und Lymphgefäßen und ihren Wänden sowie in ihrer Umgebung lokalisiert und sind durch diese Lagerung von degenerativen und physiologischen puerperalen Verfettungen abzugrenzen. Das Ausmaß der Fettsynthese hängt von Konzentration und Einwirkungs-dauer der Seifenlösung ab. Auch in den inneren Organen, besonders Lunge und Niere, sind Fettablagerungen in den Gefäßen anzutreffen. Fäulnis vermag derartige Befunde nicht hervorzurufen.

Unter den chemischen Nachweismethoden von Seifen in Leichen teilen haben wir insbesondere die Brauchbarkeit der Fettsäurebestimmung untersucht. Deshalb wurden systematische Untersuchungen über Ausmaß und zeitliche Verhältnisse des Auftretens von freien Fettsäuren bei Autolyse und Fäulnis von Leber- und Uterusgewebe durchgeführt. Dabei ergab sich regelmäßig ein Ansteigen der freien Fettsäuren schon in den ersten Tagen post mortem. Außerdem wurden während der Fäulnis auch Zunahmen des Gesamtfettsäuregehaltes (besonders im Lebergewebe) beobachtet. Die Jodzahl der Fettsäuren des Uterus, die deutlich über der von Seifenfettsäuren lag, sank im Laufe der Fäulnis langsam ab. — Von den Nebenbestandteilen der Seife wurde besonders das Titandioxyd hervorgehoben und auf den Titannachweis eingegangen.

Durch chemische Untersuchungen von Leber, Milz, Lunge, Niere und Uterus wurde festgestellt, daß während der Formalinfixierung der Fettsäuregehalt innerhalb von 6 Monaten um 4—12% abnimmt. — Ferner wurden Nachprüfungen histochemischer Methoden zum Fett-, Fettsäure- und Seifennachweis vorgenommen, wobei unter anderem festgestellt wurde, daß Färbungen mit Sudan IV (Scharlachrot) dauerhafter als mit Sudan III sind und hinsichtlich der Darstellung von Neutralfetten eine etwas höhere Spezifität haben. Mit Nilblausulfat färben sich Fette und Fettsäuren nur an, soweit sie weich oder flüssig sind. Dementsprechend nehmen Stoffe, die bei Zimmertemperatur fest sind, nur bei erhöhter Temperatur (Palmitinsäure z. B. ab 53° C) den Farbstoff an.

Literatur

ADAM, W.: Über den morphologischen Nachweis des Seifenaborts. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **41**, 416 (1952). — ANDERSON, W. A. D., and D. B. MORRISON: Role of parasite pigment (ferrihemic acid) in the production of lesions in malaria. Arch. Path. (Chicago) **33**, 677 (1942). — ANDERSON, W. A. D., D. B. MORRISON and E. F. WILLIAMS jr.: Pathologic changes following injections of Ferriheme (hematin) in dogs. Arch. Path. (Chicago) **33**, 589 (1942). — ARNOLD, J.: (1) Über Fettumsatz und Fettwanderung, Fettinfiltration und Fettdegeneration, Phagozytose, Metathese und Synthese. Virchows Arch. path. Anat. **171**, 197 (1903). — (2) Über Fettumsatz und Fettwanderung in der Cornea. Zbl. Path. **14**, 785 (1903). — ASCARELLI, A.: Histologische Studien und bakteriologische Versuche über Adipocire. Vjschr. gerichtl. Med., III. F. **32**, 247 (1906). — ASCHOFF, L.: Zur Morphologie der lipoiden Substanzen. Beitr. path. Anat. **47**, 1 (1910). — AYER, G. D., and A. G. GAULD: Uremia following blood transfusion. Arch. Path. (Chicago) **33**, 513 (1942). — BANSI, A. W.: Die Behandlung der akuten Nierenischämie mit Parathormon. Dtsch. med. Wschr. **1956**, 1459. — BEAUFAYS, J.: Über einen Fall von Abtreibungsversuch mit Seifenlösung im IX. Schwangerschaftsmonat. Zbl. Gynäk. **57**, 1592 (1933). — BECKER, J. C.: Hämolytischer Ikterus bei Abortus. Geneesk. T. Ned.-Ind. **1937**, 7. Ref. Ber. ges. Gynäk. Geburtsh. **34**, 296 (1937). — BERGEAT: Zit. nach VOIT. — BENEKE, R.: Die Fettresorption bei natürlicher und künstlicher Fettembolie und verwandten Zuständen. Beitr. path. Anat. **22**,

343 (1897). — BIANCHINI, G.: Neue Untersuchungen über Fettwachs und seine Entstehungsweise. Ref. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 8, 343 (1926). — BICKENBACH, W.: Alkalinekröse des Uterus und der Adnexe nach Einspritzung von Seifenpulverlösung in den Uterus. Med. Klin. 1930, 1663. — BINGOLD, K.: Die septischen Erkrankungen. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1937. — BLACKBURN, C. R. B., W. J. HENSLEY, D. KERR GRANT, F. B. WRIGHT and B. SLARKE: Intravascular hemolysis in man. The pathogenesis of initial stages of acute renal failure. J. clin. Invest. 33, 825 (1954). — BLOOM, W., and R. KERN: Arch. intern. Med. 39, 456 (1927). Zit. nach MLADENOVIĆ. — BOCK: Über Encephalitis bei Puerperalerkrankungen. Z. ges. Neurol. Psychiat. 115, 173 (1928). — BOCK, A., u. A. HEITER: Über die Wirkung der in den graviden Uterus instillierten Seifenlösung. Zbl. Gynäk. 70, 53 (1948). — BOEMINGHAUS, H.: Über den Wert der Nilblaumethode für die Darstellung der Fettsubstanzen. Beitr. path. Anat. 67, 533 (1920). — BORCHARDT, W., u. C. ISOPP: Experimentelle Beiträge zur Symptomatologie der akuten Bluterfallskrankheiten: Schwarzwasserfieber, paroxysmale Hämoglobinurie usw. Klin. Wschr. 1928, 1136. — BORST, M.: (1) Pathologische Histologie, 2. Aufl. Leipzig: F. C. W. Vogel 1926. — (2) S.-B. Gynäk. Ges. München vom 25. 2. 1932. Münch. med. Wschr. 1932, 492. — BRACK, E.: (1) Mitteilung über 2 Todesfälle bei Anwendung von Interruptin. Zbl. Gynäk. 56, 122 (1932). — (2) Todesfälle bei Schwangerschaftsunterbrechung mit Interruptin. Dtsch. med. Wschr. 1932, 157. — BRANTE, G.: The action of formalin preservation on nervous tissue lipids. Acta physiol. scand. 18, Suppl. 63, 90 (1949). — BRAUN, H.: Ein Beitrag zur kriminellen Fruchtabtreibung mittels Seifenwasserlösung. Inaug.-Diss. München 1927. — BREUSCH, F. L., u. H. BODUR: Seifenhämolyse und Fettsäurekonstitution. Z. physiol. Chem. 286, 148 (1951). — BROWN: Zit. nach LEMBERG u. LEGGE. — BÜRGER, L.: Die Adipocirebildung und ihre gerichtlich-medizinische Bedeutung. Vjschr. gerichtl. Med. III. F. 39, 172 (1910). — BULL, G. M., A. M. JOEKES and K. G. LOWE: Acute tubular necrosis of the kidney following abortion. Lancet 1956, 186. — CAIN, A. J.: The histochemistry of lipids in animals. Biol. Rev. 25, 73 (1950). — CECCALDI, P. F.: L'histochimie des lipides. Sem. Hôp. Paris 30, 1 (1954). — COESTER: Zur Entstehung des Fettwachses. Vjschr. gerichtl. Med., N. F. 50, 211 (1889). — COMBERG, U.: Über Sehstörungen nach Seifenabort. Klin. Mbl. Augenheilk. 126, 625 (1955). — DA ROCHA-LIMA, H.: Zur pathologischen Anatomie des Gelbfiebers. Verh. dtsch. path. Ges. 15, 163 (1912). — DECH, H.: Klinik und Pathologie des Seifenaborts. Geburtsh. u. Frauenheilk. 12, 57 (1952). — DIEKE, W.: (1) Zum Thema: Die Klinik der Seifenaborte. Ärztl. Wschr. 1952, 611. — (2) Experimentelle Untersuchungen zur Seifenintoxikation. Geburtsh. u. Frauenheilk. 12, 835 (1952). — DIERKS, K.: Schwere Scheidenverätzung durch Persil nach Abtreibungsversuch. Arch. Gynäk. 130, 813 (1927). — DIETRICH, A.: Wandlungen der Lehre von der fettigen Degeneration. Arb. path.-anat. Inst. Tübingen 5, H. 1 (1904). — DOLFINI: Zit. nach LISON. — DOLJANSKI, L., u. O. KOCH: Das Blutserum als hämoglobinotoxischer Faktor. Virchows Arch. path. Anat. 219, 401 (1933). — DYROFF, R.: Zur Frage der Tubenperistaltik. Zbl. Gynäk. 49, 1890 (1925). — ENGEL, P.: Ein Beitrag zur histochemischen Diagnostik des Seifenaborts. Inaug.-Diss. Erlangen 1951. — ERDLE, G.: Seltene Komplikation bei kriminellern Abort durch Spulungen mit Seifenlösung. Inaug. Diss. Münster 1937. — ERMANN: Beitrag zur Kenntnis der Fettwachsbildung. Vjschr. gerichtl. Med., N. F. 37, 51 (1882). — ERMANN, W.: Über Veränderungen des Fettgehalts von Leichenteilen bei Formolfixierung und bei Fäulnis. Inaug.-Diss. Erlangen 1955. — EUFINGER: Zit. nach SEITZ. — FAHLBUSCH, F.: Über Seifenvergiftung. Inaug.-Diss. Münster 1951. — FAIRLEY, N. H.: The fate of extracorporeular circulating haemoglobin. Brit. med. J. 1940, 213. — FASSBENDER, H. G.: Zur pathologischen Anatomie der Seifenvergiftung. Zbl. Path.

87, 288 (1951). — FAUST, E. ST., u. A. SCHMINCKE: Über chronische Ölsäurevergiftung. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. Suppl. 1908, 171 (Festschrift für SCHMIEDEBERG). — FAUST, E. ST., u. T. W. TALLQVIST: Über die Ursachen der Bothriocephalusanämie. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 57, 367 (1907). — FAZEKAS, J.: Fettembolien bei experimenteller Natrium- und Ammoniumhydroxyd-Vergiftung. Frankf. Z. Path. 51, 524 (1938). — FEHMANN, W.: Untersuchungen zur Sicherung der Diagnose Seifenvergiftung. Inaug.-Diss. Münster 1952. — FINGERLAND, A.: Pulmonalembolie durch „Interruptin“. Čas. Lék. čes. 1932, 935. Ref. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 20, 271 (1933). — FISCHLER, F. J.: Über experimentell erzeugte Fettsynthese am überlebenden Organ, ein Beitrag zur Frage der Fettdegeneration. Virchows Arch. path. Anat. 174, 338 (1903). — FISCHLER, F. J., u. W. GROSS: Über den histologischen Nachweis von Seife und Fettsäure im Tierkörper und die Beziehungen intravenös eingeführter Seifenmengen zur Verletzung. Beitr. path. Anat. Suppl. 7, 326 (1905). — FLASCHENTRÄGER, B., u. E. LEHNARTZ: Physiologische Chemie. Ein Hand- und Lehrbuch. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — FOURCROY: Zit. nach WALCHER (1). — FRANK, K.: Inaug.-Diss. Erlangen 1957. — FRANKEN, H.: Todesfall bei Schwangerschaftsunterbrechung mit Interruptin und seine Ursachen. Zbl. Gynäk. 56, 1282 (1932). — FRITSCH, H.: Über das Einfließen von Desinficientien in die Uterusvenen bei der Irrigation. Zbl. Gynäk. 2, 341 (1878). — FRITZ, E.: Zur Wirkung in die Gebärmutter eingespritzter Flüssigkeiten im Kreislauf. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 15, 165 (1930). — FÜHNER, H., u. E. NEUBAUER: Hämolyse durch Substanzen homologer Reihen. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 56, 333 (1907). — GEPPERT, F.: Infarzierung des Uterus und der Adnexe. Mschr. Geburtsh. Gynäk. 55, 346 (1921). — GÖSSLER, A.: Über eine seltene Form von Seifensepsis. Zbl. Gynäk. 73, 1372 (1951). — HAEFELI, M.: Der Seifenabort, mit besonderer Berücksichtigung der durch ihn bewirkten Anurie und deren Behandlung. Inaug.-Diss. Basel 1953. — Praxis 42, H. 36. — HAGE, W.: Die Einwirkung von Schmierseifenlösung auf Blut innerhalb der Gefäßbahn. Inaug.-Diss. Hamburg 1937. — HAMMAR, F. A.: Zit. nach ROMEIS. — HAMPERL, A.: Die Fluoreszenzmikroskopie menschlicher Gewebe. Virchows Arch. path. Anat. 292, 1 (1934). — HARTMANN, H.: Zum Krankheitsbild der Seifennekrose (Alkalinnekrose). Zbl. Gynäk. 53, 2237 (1929). — HASELHORST, G.: (1) Warnung vor der Anwendung des Interruptins. Dtsch. med. Wschr. 1932, 157. — (2) Vergiftung mit Seife als Krankheitsbild. Dtsch. med. Wschr. 1948, 337. — HASELHORST, G., u. E. MERTENS: Die Einwirkung von Seife auf Blut innerhalb der Gefäßbahn. Klin. Wschr. 1934, 914. — HASELHORST, G., u. G. SCHALTENBRAND: Vergiftung mit Schmierseife bei Abtreibungsversuchen und im Tierexperiment. Z. Geburtsh. Gynäk. 105, 398 (1933). — HEITER, A.: Der Seifenabort als eigenes Krankheitsbild. Geburtsh. u. Frauenheilk. 9, 822 (1949). — HEJNA, J.: Die polarographische Bestimmung von Titan in Seife. J. Amer. Oil Chem. Soc. 31, 350 (1954). Ref. Fette u. Seifen 56, 954 (1954). — HELLER, L.: (1) Die Therapie der generalisierten Seifenintoxikation. Med. Klin. 1949, 1340. — (2) Chemisch-physiologische Untersuchungen durch Abtreibungen durch Seifenspülungen. Zbl. Gynäk. 71, 934 (1949). — HELLMUTH: Zit. nach SEITZ. — HEMPEL, A., u. H. HINTERMAIER: Qualitative Analyse organischer Waschrohstoffe und Textilhilfsmittel. Fette u. Seifen 57, 185 (1955). — HINSBERG, K., u. K. LANG: Medizinische Chemie. München u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1951. — HINTERMAIER, A.: (1) Die Bestimmung der aktiven Bestandteile von Waschmitteln. Fette u. Seifen 42, 11 (1941). — (2) Quantitative Bestimmung von waschaktiven Substanzen in Waschmitteln. Fette u. Seifen 52, 689 (1952). — HOFMANN, E. R. v.: Bemerkungen über das sog. Fettwachs. Wien. med. Wschr. 1879. Zit. nach WALCHER (1). — HOLLE, G.: Über Lipoidose, Atheromatose und Sklerose der Aorta und deren Beziehungen zur Endaortitis. Virchows Arch. path. Anat. 310, 160

(1943). — HOLASEK, A., u. K. WINSAUER: Zur papierchromatographischen Trennung gesättigter Fettsäuren. *Mh. Chem.* **85**, 769 (1954). — HOPPE-SEYLER/THIERFELDER: Handbuch der physiologischen und physiologisch-chemischen Analyse, 10. Aufl., Bd. V, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — IM OBERSTEG, J.: Die Luftembolie bei kriminellern Abort. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **39**, 646 (1949). — IPSEN, K.: Zit. nach WIENEERS. — JARISCH, A.: (1) Beiträge zur Pharmakologie der Lipoide. *J. Mitt.: Versuche an roten Blutkörperchen.* *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* **186**, 299 (1921). — (2) II. Mitt.: Seife und Serum. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* **194**, 337 (1922). — KAISER, W.: Komplikationen bei intrauterinen Seifenspülungen. Inaug.-Diss. Frankfurt a. M. 1951. — KAMER, J. H. VAN DE, H. TEN BOKKEL HUININK and H. A. WEYERS: Rapid method for the determination of fat in feces. *J. biol. Chem.* **177**, 347 (1949). — KAUFMANN, C., u. E. LEHMANN: Kritische Untersuchungen über die Spezifitätsbreite histochem. Fettdifferenzierungsmethoden. *Zbl. Path.* **37**, 145 (1926). — KAUFMANN, H. P., u. W. H. NITSCH: Die Papierchromatographie auf dem Fettgebiet. XVI. Weitere Versuche zur Trennung von Fettsäuren. *Fette u. Seifen* **56**, 154 (1954). — KAYSER, H.-W.: Der provozierte Abort. *Arch. Gynäk.* **179**, 451 (1951). — KAY-WHITEHEAD. Zit. nach CECCALDI. — KIMMELSTIEL, P.: Über den Einfluß der Formalinfixierung von Organen auf die Extrahierbarkeit der Lipoide. *Z. physiol. Chem.* **184**, 143 (1929). — KOENEN, J.: Kriminelle Fruchtabtreibung durch Seifenwassereinspritzung in den Uterus und ihre Folgen. Inaug.-Diss. Bonn 1923. — KÖRNYEY, ST.: Über den Gehirnbefund nach Einspritzung von Seifenlösung in die Gebärmutter. *Klin. Wschr.* **1934**, 1502. — KRAFFER, J.: Über die Zeitfolge der Fettwachsbildung. *Friedreichs Bl.* **41**, 436 (1890). — KRATZ, CH.: Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Fettsäuren bei der Fäulnis von menschlichen Leichenteilen. Inaug.-Diss. Erlangen 1955. — KRAUS, H. H.: (1) Elektrophoretische Untersuchungen bei lebensbedrohlichen Komplikationen durch Seifenabortus. *Zbl. Gynäk.* **75**, 1337 (1953). — (2) Diagnose und Therapie des Seifenabortus. *Zbl. Gynäk.* **76**, 1915 (1954). — KÜSTNER, O.: Über Carbolintoxikation nach Ausspülungen des puerperalen Uterus. *Zbl. Gynäk.* **2**, 313 (1878). — LAGARIE, G.: Untersuchungen über pseudokalkartige Niederschläge in der Gefäßwand bei der Coronarsklerose. Inaug.-Diss. Würzburg 1944. — LAVES, W.: Das Vorkommen und das Verhalten von Methämoglobin in der Leiche. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **12**, 549 (1928). — LAZZARINI, L.: Nuovo metodo istochimico per la ricerca dei saponi degli acid grassi nei tessuti. *Diagnost. Teen. Lab.* **2**, 750 (1931); *Ref. Ber. ges. Physiol.* **64**, 680 (1932). — LEHMANN, K. B.: Ein Beitrag zur Frage nach der Entstehung des Leichenwachses aus Eiweiß. *S.-B. phys.-med. Ges. Würzburg* **1888**, 19. — LEIPOLD, H.: Über den Nachweis von waschaktiven Substanzen im Blut. Inaug.-Diss. Erlangen 1956. — LEMBERG, R., and J. W. LEGGE: Hematin compounds and bile pigments. New York: Interscience Publ. 1949. — LENNERT, K.: Die Histochemie der Fette und Lipoide. *Z. wiss. Mikr.* **62**, 368 (1955). — LENNERT, K., u. G. WEITZEL: Zur Spezifität der histol. Fettfärbungsmethoden. *Z. wiss. Mikr.* **61**, 20 (1952). — LEWIN, L.: Die Fruchtabtreibung durch Gifte und andere Mittel. 4. Aufl. Berlin: Stike 1925. — LIEBERMANN, L.: Über Hämagglutination und Hämatolyse. *Biochem. Z.* **4**, 25 (1907). — LIPP, W.: Histochemische Methoden. *Lieferg I*, S. 15. München: Oldenbourg 1954. — LISON, L.: Histochemie animale. Paris 1936. — LUDWIG, E.: Vortrag über Adipocire. *Wien. med. Wschr.* **1881**, 1291. — MAKAY, R., u. G. HASELHORST: Vergiftung mit Schmierseife nach Abtreibungsversuchen und im Tierexperiment. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **132**, 276 (1933). — MAILLARD, L. C., et J. ÉTTORI: Le titane chez les mammifères et en particulier chez l'homme. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **122**, 951 (1936). — MANZ, R., u. D. LORKE: Über einige Ergebnisse bei experimenteller Laugenvergiftung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **43**, 88 (1954/55). — MICHEEL, F., u. H. SCHWEPPE: Papier

chromatographische Trennung höherer Fettsäuren mit Celluloseacetatpapier. Z. angew. Chem. **66**, 136 (1954). — MILLOT, J., et A. GILBERTON: Sur l'utilisation, en histologie, des pièces conservées dans le formol, pour la mise en évidence des graisses. C. R. Soc. Biol. (Paris) **97**, 1674 (1927). — MLADENVOIĆ, M., u. H. LIEB: Über den Einfluß der Formalinfixierung von Organen auf die Extrahierbarkeit der Lipoiden. Z. physiol. Chem. **181**, 221 (1929). — MOELL, O.-H.: Zum Krankheitsbild der Seifenwasserintoxikation nach intrauteriner Injektion. Zbl. Gynäk. **69**, 824 (1947). — MUELLER, B.: Gerichtliche Medizin. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — MÜLLER, E.: (1) Zur funktionellen Pathologie der Sperrarterien und der arterio-venösen Kurzschlüsse der Lunge am Beispiel der Geschwulstzell-Embolie. Frankfurt. Z. Path. **64**, 459 (1953). — (2) Der Zelltod. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/1, S. 638. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — MÜLLER, M., et A. PATOIR: Note sur la caractérisation des traces de savon. Ann. Méd. lég. **3**, 504 (1923). — MÜLLER-HESS, V., u. W. HALLERMANN: Schwangerschaftsunterbrechung durch salbenartige Mittel. Ein ärztlicher Kunstfehler! Med. Welt **1932**, 373. — MUNK, J.: Über die Wirkungen der Fettsäuren und Seifen im Tierkörper. Zbl. med. Wiss. **27**, 514 (1889). — MURRAY, R. G., and S. FREEMAN: Morphologic distribution of fatty chyle injections. J. Lab. clin. Med. **38**, 56 (1951). — NEUBÜRGER, H.: Gerichtliche Geburtshilfe. Stuttgart: Georg Thieme 1957. — NEUBÜRGER, K.: Über cerebrale Fett- u. Luftembolie. Z. ges. Neurol. Psychiat. **95**, 278 (1925). — NOGUCHI, H.: (1) On certain thermostabile venom activators. J. exp. Med. **8** (1906). Zit. nach NOGUCHI (2). — (2) Über gewisse chemische Komplementsubstanzen. Biochem. Z. **6**, 327 (1907). — ORAM, V.: Svangerskabsafbrydelse med saebe. Ugeskr. Laeg. **118**, 312 (1956). — OTTO, K.: Erfahrungen über die operationslose Unterbrechung der Schwangerschaft mit Interruptin. Zbl. Gynäk. **56**, 112 (1932). — ORTOW, B.: Akute toxische Hämolyse mit tödlichem Ausgang bei kriminellern Abortus. Zbl. Gynäk. **54**, 2255 (1930). — PETERSOHN, F.: Histologische Befunde bei Seifeneinspritzungen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **43**, 104 (1954/55). — POLANO, O.: Über kriminelle Schwangerschaftsunterbrechung mittels Seifenlösungen. Münch. med. Wschr. **1926**, 1317. — PUDER, H.: Die pathologisch-anatomischen Befunde bei der Seifenintoxikation. Z. Geburtsh. Gynäk. **145**, 171 (1956). — PUPPE, G.: (1) Über kriminellen Abort. Mschr. Geburtsh. Gynäk. **21**, 314 (1905). — (2) Atlas und Grundriß der gerichtlichen Medizin, Bd. II, S. 519. München 1908. — RABBENO, A.: Pharmakologische Wirkungen der Seife. Ref. Münch. med. Wschr. **1928**, 1655. — RECKLINGHAUSEN, v.: Allgemeine Pathologie. Stuttgart: Ferdinand Enke 1883. — REICHENBACH, CH.: Experimentelle Studien zur Frage der Veränderung der Fettsäure in menschlichen Leichteilen in den frühen Stadien der Fäulnis. Inaug.-Diss. Erlangen 1955. — RIES, W.: Aktive oder konservative Therapie bei Seifenintoxikationen infolge von Abtreibungsversuchen? Zbl. Gynäk. **74**, 1371 (1952). — ROMELS, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München: Leibnitz-Verlag 1948. — RUNGE, H.: Alkaliniekrose des Uterus und der Adnexe, ein bisher niemals beschriebenes Krankheitsbild. Zbl. Gynäk. **51**, 1562 (1927). — RUNGE, H., u. H. HARTMANN: Klinische und experimentelle Untersuchungen über Darmschädigungen nach Seifeneinlauf. Klin. Wschr. **1928**, 2389. — SAAR, H.: Septischer Spontanabort und fragliche Abtreibung. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **40**, 606 (1952). — SACHS, H. W.: Nephrosen bei Transfusionsschäden und exogenen Vergiftungen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **46**, 362 (1957). — SALKOWSKY, E.: Zur Kenntnis der Fettwachsbildung. Festschrift RUDOLF VIRCHOW zu seinem 71. Geburtstage. Berlin 1891. — SCHMIDT, A.: Die Seifenwasserintoxikation als eigenes Krankheitsbild, ihr Nachweis und ihre Therapie. Inaug.-Diss. Erlangen 1953. — SCHMIDT, O.: Potentiometrische Untersuchungen über die Reduktionsvorgänge in der Leiche und in Leichenorganen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **37**, 20 (1943). — SCHOLZ, H.: (1) Die Klinik der Seifenaborte. Ärztl. Wschr. **1952**,

109. — (2) Schlußwort zum gleichen Thema. *Ärztl. Wschr.* **1952**, 612. — SCHRECK, E.: Zit. nach B. MUELLER u. Ber. Tagg. Dtsch. Ophthalm. Ges. 1951, S. 148. — SCHULTZ, D.: Abtreibungsmethoden der Nachkriegszeit. Inaug.-Diss. Heidelberg 1951. — SCHWAB, E.: Zur Frage der Behandlung der Uterusperforation. *Zbl. Gynäk.* **47**, 1451 (1923). — SCHWERD, W.: (1) Eine neue Methode zum Nachweis von Hämatin im Blut. *Medizinische* **1958**, 383. (2) Über die Bindung des Hämatins an Bluteiweißstoffe. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **310**, 114 (1958). — (3) Studium über das Verhalten des Hämatins in alterndem Blutserum. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **46**, 772 (1958). — (4) Der Seifenabort und seine Gefahren. *Neue Z. ärztl. Fortbild.* **47**, N. F. **1**, 46 (1958). — SEITZ, L.: In: *Biologie und Pathologie des Weibes*, herausgeg. von SEITZ u. AMREICH, 2. Aufl., Bd. VIII, S. 629. Berlin-Innsbruck-München-Wien: Urban & Schwarzenberg 1951. — SMITH, L.: On the simultaneous staining of neutral fat and fatty acid by oxyzine dyes. *J. Path. Bact.* **12**, 1, 415 (1907). — STACKELBERG, M. v.: Polarographische Arbeitsmethoden. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1950. — STEFANELLI, S.: Sul comportamento dei grassi e dei polisaccaridi nel miometrio della donna durante l'involutione puerperale. *Ann. Ostet. Ginec.* **76**, Fasc. XII (1954). — STIEVE, H.: Muskulatur und Bindegewebe in der Wand der menschlichen Gebärmutter außerhalb und während der Schwangerschaft, während der Geburt und des Wochenbettes. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **17**, 371 (1929). — STRACK, E.: In *Physiologische Chemie von FLASCHENTRÄGER u. LEHNARTZ*, Bd. II 1a: *Der Stoffwechsel*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954. — STÜPEL, H.: Die quantitative Bestimmung waschaktiver Substanzen. *Chemiker-Ztg* **76**, 252 (1952). — THOURET: Zit. nach WALCHER. — TILCHER, O.: Über das pathologisch-anatomische Bild der „Seifenekrose des Uterus“. *Virchows Arch. path. Anat.* **284**, 817 (1932). — TOSETTI, P.: Ein Beitrag zum kriminellen Abort. *Z. Geburtsh. u. Gynäk.* **79**, 445 (1917). — TRAPPE, W.: Modifikation der Jodzählbestimmungsmethode nach H. P. KAUFMANN für kleine und kleinste Fettmengen. *Biochem. Z.* **296**, 180 (1938). — VOIT, E.: Versuche über Adipocirebildung. *Münch. med. Wschr.* **1888**, 518. — WALCHER, K.: Studien über die Leichenfäulnis mit besonderer Berücksichtigung der Histologie derselben. *Virchows Arch. path. Anat.* **268**, 17 (1928). — WASICKY, R., u. E. AMARANT: Zit. nach H. STETTER. *Enzymatische Analyse*. Weinheim: Verlag Chemie 1957. — WEINERT, O.: Seifenabort. *Med. Wschr.* **8**, 616 (1954). — WEINIG, E.: (1) Technische Neuerungen beim polarographischen Arbeiten. *Die Chem. Fabrik* **14**, 361 (1941). — (2) Die Polarographie im Dienste der Strafrechtspflege. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **37**, 322 (1943). — WEINIG, E., G. NEUGEBAUER u. I. NEUGEBAUER: Polarographische Bleibestimmung in Blut und Harn. *Arch. Hyg. (Berl.)* **139**, 551 (1955). — WEINIG, E., u. W. SCHWERD: Histochemische Beobachtungen nach Seifenwassereinspritzung in die schwangere Gebärmutter. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **40**, 649 (1951). — WEISE, J.: Intoxikation mit Sagrotan-Seifenlösung. *Dtsch. med. Wschr.* **1951**, 249. — WEMMER, F. BR.: Kurzer Beitrag zur Frage des kriminellen Abortes. *Zbl. Gynäk.* **45**, 615 (1921). — WILLIAMS, G. F., E. A. DANINO and V. J. DAVIES: Intrauterine pastes for therapeutic abortion. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* **62**, 585 (1955). — WURZSCHMITT, B.: Systematik und qualitative Untersuchung kapillaraktiver Substanzen. *Z. analyt. Chem.* **130**, 105 (1950). — ZEIGER, K.: *Physikochem. Grundlagen der histol. Methodik*. Dresden u. Leipzig: Steinkopff 1938. — ZILLNER, E.: Zur Kenntnis des Leichenwachses. *Vjschr. gerichtl. Med.*, N. F. **42**, 1 (1885).

Priv.-Doz. Dr. WOLFGANG SCHWERD, Erlangen
Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität

DIE MEDIZINISCHE

BEGRÜNDET VON FRANZ VOLHARD

Schriftleitung:
DOZ. DR. E. VOLHARD
DR. PAUL H. MATIS

8. März 1958 / Nr. 10

Friedrich-Karl Schattauer-Verlag - Stuttgart 1

Eine neue Methode zum Nachweis von Hämatin im Blut*)

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

Priv.-Doz. Dr. WOLFGANG SCHWERD

Hämatin, die Farbstoffkomponente des Methämoglobins entsteht aus Hämoglobin (und Methämoglobin) durch Abspaltung des Eiweißanteils (Globin) und tritt nach den Feststellungen zahlreicher Autoren bei allen mit stärkerer Hämolyse einhergehenden Krankheiten auf. 1912 wurde es erstmals von Schumm bei einer akuten Chromvergiftung mit Blutkörperchenzerfall im Serum entdeckt und später auch bei verschiedenen anderen Krankheiten beobachtet, so z. B. bei Gasbrand (Schumm), perniziöser Anämie (Heilmeyer), Malaria, Schwarzwasserfieber (Fairley und Bromfield), Icterus neonatorum, hämolytischer Anämie, akuter gelber Leberatrophie, Seifenintoxikation (Haselhorst und Schaltenbrand, Haselhorst und Mertens, Bock und Heiter, Heller, Ries u. a.), bei Transfusionschäden, nach stumpfen Gewalteinwirkungen auf Weichteile (ohne offene Wunden) (Bingold) usw. Der Farb-

*) Herrn Prof. Dr. B. Mueller, Direktor des Institutes für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg, zur Vollendung des 60. Lebensjahres gewidmet.

Für Literaturangaben:

Medizinische Nr. 10: 383—385 (1958)

stoff hat also offensichtlich erhebliches klinisches und auch gerichtsmedizinisches Interesse, hat man ihn doch sogar für das Zustandekommen verschiedener funktioneller und organischer Störungen an Blutgefäßen und an der Niere sowie für das Auftreten von Krämpfen verantwortlich gemacht (Brown und Mitarbeiter, Anderson und Mitarbeiter). Vielleicht sind auch die Symptome der Versuchstiere (Lichtscheu, Apathie, Ataxie usw.) bei dem sog. biologischen Blutnachweis von De Francesco auf eine toxische Wirkung des Hämatins (oder aber von Erweißenaturierungsprodukten) zurückzuführen, da Schleyer, Seillier und Nocker in den Versuchslösungen nicht das von De Francesco als toxisches Agens angeschuldigte Hämatoporphyrin, sondern nur Hämatinchlorid finden konnten.

Trotz der erheblichen praktischen Bedeutung enthalten die modernen analytischen Werke keine Angaben über den Nachweis des Hämatins und in der Literatur fanden wir nur zwei Methoden. Die eine wurde von Schumm 1913 angegeben und beruht auf dem spektroskopischen Nachweis der Absorptionsbanden des Hämatins vor bzw. nach Reduktion mit Ammoniumsulfid. Die zweite, von Rosenfeld, Zubrod, Blake und Shannon ausgearbeitete Methode zum Nachweis des Methämalbumins (der vermeintlichen Serumverbindung des Hämatins, s. dazu Schwerd [1]) besitzt nur theoretischen Wert, weil ihr die Messung der Lichtabsorption bei 405 m μ zugrunde liegt, bei einer Wellenlänge also, bei der so gut wie alle Blutfarbstoffderivate eine starke Absorption aufweisen. — Aber auch die Schummsche Methode ist an Voraussetzungen geknüpft, die beim klinischen Material vielfach — beim gerichtsmedizinischen Material sogar meist — nicht gegeben sind. Die Methode ist nämlich nur mit Serum, nicht aber mit Vollblut anwendbar und auch das Serum darf neben Hämatin keine größeren Mengen von Oxy- oder Methämoglobin enthalten.

Auf der Suche nach einer geeigneteren Methode zum Nachweis von Hämatin prüften wir zunächst die Möglichkeiten des spektrophotometrischen Nachweises, doch ergaben sich hierbei die gleichen Schwierigkeiten wie bei dem spektroskopischen Verfahren von Schumm. Je größer der Gehalt an anderen Blutfarbstoffderivaten, desto schwieriger ist es, Hämatin abzugrenzen, besonders wenn es in nicht allzu großer Menge vorliegt. Qualitativ ist es am ehesten im roten Teil des Spektrums zu fassen. Hier besitzt Serumhämatin ein Maximum bei 620 m μ .

Doch stört das Methämoglobin, das eine Bande mit Maximum bei 630 $m\mu$ aufweist. Da aber das Methämoglobinspektrum reaktionsabhängig (H a u r o w i t z) ist, gelingt es — wie schon S c h u m m zeigte —, durch Alkalisieren die Absorption des Methämoglobins im Rot etwa ab pH 8 weitgehend zu verringern. Eine dann noch nachweisbare Absorptionsbande bei 620 $m\mu$ rührt von Hämatin her.

Sofern wegen hoher Farbstoffkonzentration eine Verdünnung erforderlich ist, empfiehlt es sich, diese mit (farbstofffreiem) Serum und nicht mit Wasser vorzunehmen, weil die Absorptionsbande des Serumhämatins in verdünntem Serum stark abflacht. Demgemäß sollte auch zum Alkalisieren keine zu schwache Natronlauge verwendet werden. Es eignet sich eine 5 bis 10%ige NaOH, wovon 1 bis 2 Tropfen pro ml Serum genügen.

Zur quantitativen Erfassung des Hämatins in Gemischen mit anderen Farbstoffen ist dieses Vorgehen nicht geeignet, weil die Absorption von Oxyhämoglobin, Hämoglobin, Methämoglobin und evtl. vorhandenen Porphyrinen in diesem Bereich nicht völlig auszuschalten ist.

Im gelbgrünen Spektralteil und auch zum Blau hin ist das Serumhämatin (Abb. 1a) so wenig differenziert, daß von vornherein keine Aussicht besteht, es neben dem im spektralen Verhalten sehr ähnlichen Methämoglobin oder neben Hämoglobin und Oxyhämoglobin zu erkennen. Dagegen war daran zu denken, es nach Reduktion der vorhandenen Farbstoffe erfassen zu können. (Über die hierbei je nach Reaktion und Eiweißbeschaffenheit entstehenden Absorptionskurven haben wir an anderer Stelle berichtet [S c h w e r d, 2]). In dieser Weise ist S c h u m m vorgegangen, der seine Seren mit Ammoniumsulfid reduzierte und dann im Gitterspektroskop beobachtete, ob bei 559 $m\mu$ eine Absorptionsbande auftrat. Diese Bande entspricht bekanntlich dem ersten Hauptstreifen des Serumhämochromogens. Nach Zugabe von Schwefelammonium zu hämatinhaltigem Serum entwickelt sich also nicht das reduzierte Serumhämatin (Abb. 1b) wie bei der Verwendung von Natriumdithionit als Reduktionsmittel (vgl. S c h w e r d [1]), sondern ein Hämochromogen (Abb. 2a). Nach unseren Versuchen ist das hierbei entstehende Hämochromogenspektrum deutlich schwächer ausgebildet als dasjenige, welches auftritt, wenn man hämatinhaltiges Serum stark alkalisiert und mit Natriumdithionit reduziert (Abb. 2b). Die Entstehung eines Hämochromogenspektrums unter den genannten Umständen ist auf eine Denaturierung der Serumproteine durch den Schwefelammoniumzusatz zurückzuführen, wobei bemerkenswert ist, daß auch die Intensität der Absorptionsbanden durch stärkeres Alkalisieren (nach dem Zusatz von 1/10 Volumen frisch bereitetem Ammoniumsulfid [pH 11,1] zum Serum, entsprechend der Vorschrift von S c h u m m, war nach einem Ausgangswert von pH 7,48 ein pH-Wert von

10,6 zu messen) nicht zunahm. Wir erkennen also auch hier die schon von O. Schmidt 1937 betonte Abhängigkeit der Hamochromogenbildung von der Eiweißbeschaffenheit. Infolge der nach dem Zusatz von Ammoniumsulfid entstehenden relativ schwachen Hamochromogenbanden ist das Schummsche Verfahren zum Hämatinnachweis auch nicht sehr empfindlich.

Unsere Versuche, die Empfindlichkeit des Schummschen Verfahrens durch kleine Abänderungen zu erhöhen, führten nicht zum Erfolg. Durch stärkeres Alkalisieren lassen sich die Hämochromogenbanden, wie erwähnt, nicht intensivieren, abgesehen davon, daß im stärker alkalischen Milieu damit zu rechnen ist, daß sich aus gleichzeitig vorhandenem Blutfarbstoff und seinen Derivaten Hamochromogen bildet und die Methode damit ihre Spezifität verliert. Aber auch die Anwendung eines anderen Reduktionsmittels, wie z. B. Natriumdithionit, versprach keine Verbesserung der Methode, weil das im schwach alkalischen Milieu (pH 7 bis 10) sich entwickelnde reduzierte Serumhämatin eine zu wenig prägnante Absorptionskurve aufweist, um in Gemischen mit Hämoglobin und seinen Derivaten hervorzutreten (Abb. 1b).

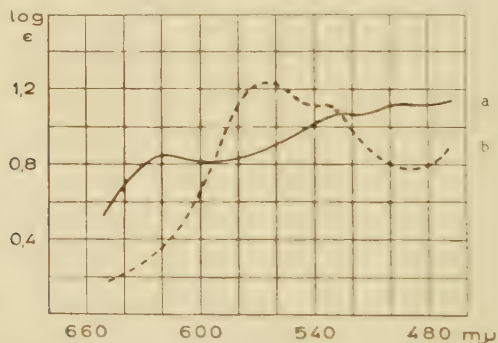


Abb. 1: Serumhämatin. a) in n/10 NaOH gelöstes Hämatin in frischem Serum; Konzentration etwa 0,1%; pH 7,5—8. — b) dasselbe nach Reduktion mit Natriumdithionit.

Nach den gescheiterten spektrophotometrischen Versuchen prüften wir verschiedene Möglichkeiten, Hämatin auf chemischem Wege durch Abtrennung vom Blutfarbstoff bzw. seinen Derivaten zu erfassen. Es zeigte sich schließlich, daß dies unter Zuhilfenahme eines Azetat-Essigsäure-Puffers gelingt, wie ihn Wolff für sein Verfahren zur Kohlenoxydhämoglobinbestimmung angegeben hat. Unsere Methode unterscheidet sich indessen von dem Wolffschen Verfahren dadurch, daß ihr Prinzip dem dieser Methode entgegengesetzt ist. Während dort die

störenden Farbstoffe durch Fällung abgetrennt werden, wird hier der gesuchte Farbstoff, das Hämatin, ausgefällt.

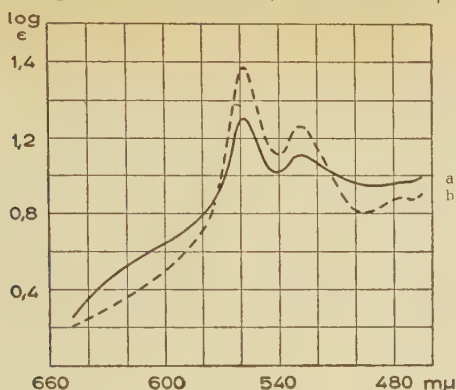


Abb. 2: a) Hämatin in frischem Serum (Konzentration etwa 0,1%) reduziert mit Ammoniumsulfid; b) Hämatin in frischem Serum, nach Zusatz von 2 Tropfen 10%ig. NaOH pro ml mit Natriumdithionit reduziert (Serumhämochromogen).

Bei den Vorversuchen arbeiteten wir mit Blutproben, denen bekannte Mengen in n/10 NaOH gelösten Hämatins zugesetzt wurden. Trotz der Zugabe konstanter Hämatinmengen blieb zunächst die Rückgewinnung zwar bei mehreren Versuchen mit derselben Blutprobe konstant, war jedoch bei Verwendung verschiedener Blutproben sehr wechselnd. In systematischen Versuchen ließ sich nachweisen, daß die Ausbeute um so geringer war, je frischer die Blutproben waren und je kürzer der Puffer eingewirkt hatte. Bei ganz frischen Blutproben konnten nach 10 bis 15 Min. langer Einwirkung des Puffers bei Zimmertemperatur nur wenige Prozent des zugesetzten Hämatins wieder gewonnen werden, dagegen war bereits nach mehrstündiger Aufbewahrung der Blutproben eine wesentlich größere Ausbeute zu erzielen, die nach etwa 24 Stunden 50 bis 60% betrug. Diese Unterschiede waren nun nicht auf eine in der Zwischenzeit erfolgte spontane Hämatinbildung zurückzuführen, denn gleichzeitig angesetzte Leerproben des gleichen Blutes ergaben negative Befunde. Die Unterschiede sind vielmehr offenbar dadurch bedingt, daß das Hämatin in frischem Blut Verbindungen eingeht, die eine Fällung durch den Puffer verhindern, so daß es bei den erforderlichen Waschprozessen mit den übrigen Blutfarbstoffen entfernt wird. Weitere Versuche zeigten, daß durch Verlängerung der Einwirkungszeit des Puffers auch bei frisch entnommenen Bluten die Rück-

gewinnung zugesetzten Hämatins wesentlich zu verbessern ist. Als günstigste Zeitspanne wurden 40 bis 50 Min. ermittelt und als optimale Blutverdünnung vor Zusatz des Puffers eine solche von 1 Teil Blut mit 2 Teilen Wasser. Länger als 50 Min. sollte der Puffer nicht einwirken, weil sonst mit einer ins Gewicht fallenden spontanen Hämatinbildung zu rechnen ist. Auch sollte die Temperatur im Untersuchungsraum nicht mehr als 20° C betragen.

Arbeitsvorschrift: Zum qualitativen Nachweis von Hämatin wird folgendermaßen vorgegangen:

1 ml Vollblut bzw. Serum wird mit 2 ml dest. Wasser verdünnt. Nach Durchmischung wird 1 ml dieser Lösung mit 2 ml Pufferlösung (14,25 ml Eisessig, 61,2 g Natriumazetat, Aqua dest. ad 200) vermennt und 45 Min. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wird 3 bis 5 Min. lang scharf zentrifugiert (3000 bis 3500 Umdrehungen/Min.). Die überstehende Lösung muß klar sein. Sie wird abgegossen und das Sediment mit 7 ml dest. Wasser aufgeschüttelt, erneut abzentrifugiert und die überstehende (klare) Flüssigkeit wieder abgegossen. Das Sediment wird nun nochmals mit 7 ml dest. Wasser gewaschen, wieder abzentrifugiert und jetzt nach dem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit in 2 ml Eisessig gelöst.*)

Blut vom Gesunden ergibt nach unseren Erfahrungen bei diesem Vorgehen eine farblose, höchstens aber schwach gelbbraunlich gefarbte Lösung. Mit Hämatin versetztes Blut führte dagegen je nach dem Hämatiningehalt statt zu einem grauweißlichen zu einem mehr oder weniger stark braun gefarbenen Sediment und zu einer Braunfärbung der essigsauen Lösung des Sediments.

Sofern die Lösung des Sediments in Eisessig getrübt ist, empfiehlt sich die Extraktion des Farbstoffs mit Äther, aus dem er mit wäßriger Ammoniaklösung wieder ausgeschüttelt werden kann. Darin läßt sich das Hämatin nach Reduktion als Ammoniakhamochromogen mit zwei kräftigen Absorptionsbanden bei 555 und 525 m μ gut spektroskopisch nachweisen. Zur qualitativen Sicherung des Befundes ist dieses Vorgehen auch sonst angebracht.

*) Anm.: Eine beim Zentrifugieren sich evtl. an der Oberfläche bildende Schicht von farbstoffhaltigen Flocken bleibt beim vorsichtigen Dekantieren an der Innenwand des Zentrifugengläschens haften, so daß das darin enthaltene Hämatin der Bestimmung nicht entgeht.

Bei Einhaltung der Arbeitsvorschrift waren nach Zusatz von ca. 1 mg Hämatin pro ml 33%iger Blutlösung im Durchschnitt 50 bis 60% wiederzufinden. Allerdings ist die Schwankung in der Ausbeute noch zu stark, um mit der Methode genaue quantitative Bestimmungen durchzuführen. Doch ist es schon jetzt möglich, damit wenigstens **grob quantitativ** zu arbeiten, wobei als Vergleichslösung (bei nicht zu hohem Hämingehalt) am besten 0,1 ml der 33%igen Lösung des zu untersuchenden Blutes dienen, die mit 1,9 ml Eisessig versetzt werden. Diese Lösung entspricht einem 10%igen Hämingehalt des zu untersuchenden Blutes und kann zum kolorimetrischen Vergleich herangezogen werden. Der Hämatin-gehalt kann auch einfacher durch Verdünnung der Vergleichslösung mit Wasser bis zur Erreichung gleicher Farbintensität mit der Probe bestimmt werden. Aus dem Wasserverbrauch ist der Wert leicht zu errechnen, wobei ein etwa 40%iger Verlust berücksichtigt und das Ergebnis daher mit 1,6 bis 1,7 multipliziert werden muß.

Unsere Versuche, die Ausbeute an Hämatin noch zu steigern, sind bisher gescheitert. Die Sedimente statt mit dest. Wasser mit Pufferlösung zu waschen, ergab keine Verbesserung, sondern sogar eine Verschlechterung der Resultate. Ausgehend von dem Gedanken, daß es sich um eine Hämatin-Eiweißfällung handelt, setzten wir Anti-Mensch und Anti-Globulin-Seren zu, ohne aber eine Verbesserung zu erzielen. Dagegen kann eine größere Ausbeute bei erhöhter Temperatur erreicht werden. Hierbei setzt jedoch eine spontane Hämatinbildung ein, weshalb der intakte Blutfarbstoff durch vorheriges Durchleiten von Kohlenoxyd bzw. Leuchtgas in CO-Hb umgewandelt werden muß, da ja bekanntlich CO-Hb gegen chemische und physikalische Einflüsse sehr resistent ist (vgl. die Hoppe-Seyler'sche Natronlaugeprobe, die Kunkelsche Tanninprobe, die Wolffsche Probe, die Zephirolprobe von Laves). Allerdings wird durch diese Maßnahme das Verfahren wesentlich umständlicher, weshalb wir sie nur erwähnen wollen, ohne ausführlich darauf einzugehen.

Mit dem genannten Verfahren können noch etwa 50 bis 60 Gamma Hämatin nachgewiesen werden, was der bei einer Umwandlung von 2 bis 3% Hämoglobin (bei 16 g Hb. = 100%) entstehenden Hämatinmenge entspricht.

Spezifität der Methode: Wir prüften die Methode mit etwa 100 Frischblutproben und 20 Proben von frischem Leichenblut und erhielten stets farblose oder höchstens ganz schwach positive (schwach gelb bis bräunlich gefärbte) Proben. Methämoglobin (Hämiglobin) stört nicht.

Auch stark bilirubinhaltiges Serum ergab keinen positiven Befund. Beim längeren Stehen von Blut setzt mit zunehmender Fäulnis eine Hämatinbildung ein, worüber weitere Versuche im Gange sind.

Zusammenfassung: Es wird eine einfache qualitative Methode zum Nachweis von Hämatin im Blut angegeben, die auf der Ausfällung des Farbstoffes mit Hilfe eines Essigsäure-Azetat-Puffers beruht. Die Methode bietet auch die Möglichkeit einer grobquantitativen Bestimmung. Mit diesem Verfahren ist es erstmals möglich, Hamatin nicht nur im Serum sondern auch im Vollblut nachzuweisen.

Literatur

Anderson, W. A. D., Morrison, D. B. und Williams, E. F., Jr.: Arch. Path. **33**, 589 (1942). — Bingold, K.: Münch. med. Wschr. **39** (1944). — Bock, A. und Heiter, A.: Zbl. Gynäk. **70**, 53 (1948). — Brown: Zit. nach Lemberg und Legge. — De Francesco: Fol. med. (Napoli) **35**, 1026 (1952); Ref.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **42**, 668 (1953/4). — Fairley, N.H. und Bromfield, R.J.: Zit. nach Lemberg und Legge. — Haselhorst, G. und Mertens, E.: Klin. Wschr. **1934**, 914. — Haselhorst, G. und Schaltenbrand, G.: Z. Geb.-Hilfe und Gynäk. **105**, 398 (1933). — Harowitz, F.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **138**, 68 (1924). — Heilmeyer, L.: Medizinische Spektrophotometrie, Verlag Fischer, Jena, 1933. — Heller, L.: Zbl. Gynäk. **71**, 934 (1949). — Laves, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **45**, 532 (1956). — Lemberg, R. und Legge, J. W.: Hematin Compounds and Bile Pigments, Interscience Publishers, New York, 1949. — Ries, W.: Zbl. Gynäk. **74**, 1371 (1952). — Rosenfeld, M., Zubrod, Ch. G., Blake, W. D. und Shannon, J. A.: J. Clin. Invest. **27**, (Suppl.) 138 (1948). — Schleyer, F. K., Sellier, und Nocker, D.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **45**, 370 (1956). — Schmidt, O.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **27**, 81 (1936). — Schumm, O.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **80**, 1 (1912). — Schumm, O.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **87**, 171 (1913). — Schumm, O.: Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe. Verlag Fischer, Jena, 1927. — Schwerd, W.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. erscheint demnächst. — Schwerd, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **46**, 772 (1958). — Wolff, E.: Sv. Läkartidn **492** (1941).

Der Verlag behält sich alle Rechte, besonders die des Nachdruckes, der Vervielfältigung und der Übersetzung, vor.

Sonderdruck

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 310, S. 114–119, 1958

Die Bindung des Hämatins an Bluteiweißstoffe

Von

Wolfgang Schwerd

Die Bindung des Hämatins an Bluteiweißstoffe

Von

Wolfgang Schwerd

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

(Der Schriftleitung zugegangen am 6. August 1957)

Hämatin (Oxyhämin) tritt bei verschiedenen krankhaften Zuständen im Blutserum auf. Es wurde bei perniziöser Anämie, Malaria, Schwarzwasserfieber, Ikterus neonatorum, hämolytischer Anämie, Eklampsie, akuter gelber Leberatrophie, bei verschiedenen Vergiftungen, beispielsweise bei der Seifenintoxikation¹ und bei anderen mit pathologischem Blutzerfall einhergehenden Zuständen, wie Transfusionschäden, beobachtet. Ferner findet es sich in älteren Hämatomen und tritt bei Fäulnis von Blut in Erscheinung. Experimentell wurde es auch bei Autolyseversuchen mit Blut² und in Tierversuchen bereits wenige Stunden nach intravenöser Injektion von Hämoglobin nachgewiesen³.

Über die Frage, in welcher Form das Hämatin im Serum vorliegt, besteht bisher keine einhellige Meinung. Schumm⁴, der den Farbstoff erstmals im menschlichen Serum fand, wies ihn spektroskopisch durch Bestimmung der Lage der Absorptionsmaxima und vor allem auf Grund des Auftretens der Hämochromogenstreifen nach Reduktion mit Ammoniumsulfid oder Hydrazinhydrat nach. Nach seinen Angaben besitzen reine alkalische Hämatinlösungen ihr Maximum im Rot bei 612 m μ , während die Maxima hämatinreicher Seren zwischen 621 und 627 m μ liegen. Über die Ursache dieser Verschiedenheit äußerte sich Schumm nicht. Er beschrieb auch Absorptionsbanden des Hämatins bei 577 und 540 m μ , von denen besonders die erstere sehr intensiv sein soll.

Wir fanden jedoch weder bei der Durchsicht der einschlägigen Literatur, noch bei eigenen Versuchen ein entsprechendes Verhalten des Hämatins. Nach unseren Untersuchungen zeigt vielmehr eine reine Hämatinlösung einen sehr wenig charakteristischen Absorptionsverlauf mit einem flachen Maximum bei 612 m μ (Abb. 1) und einer langsamen Zunahme der Absorption zum Violett hin. Im stärker alkalischen Milieu (über p_H 10) ist er etwas profiliert (Abb. 2), das Maximum im Rot tritt deutlicher hervor und nach einem flachen Minimum im Gelbgrün

¹ G. Haselhorst und E. Mertens, *Klin. Wschr.* **1934**, 914.

² L. Doljanski und O. Koch, *Virehows Arch. pathol. Anatom. Physiol. klin. Med.* **219**, 401 [1933].

³ N. H. Fairley, *Nature* [London] **130**, 588 [1937]; **142**, 1156 [1938]; *Brit. med. J.* **1940**, 213; *Brit. J. exp. Pathol.* **21**, 231 [1940].

⁴ O. Schumm, *diese Z.* **87**, 171 [1913]; *Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe*, Verlag Fischer, Jena 1927.

zeichnen sich zwei angedeutete Maxima bei 525 bis 530 und bei 495 $m\mu$ ab. Auch durch Reduktion sind keine besonders eindrucksvollen Absorptionskurven zu erhalten (Abb. 1 und 2). Im menschlichen Serum gelöstes Hämatin (Abb. 6a) weicht im optischen Verhalten von dem in wäßriger Lösung vor allem durch eine Verlagerung des Maximums im Rot von 612 nach 620 $m\mu$ ab.

Die von Schumm mitunter beobachtete Verschiebung des Maximums im Rot über 620 $m\mu$ hinaus scheint auf gleichzeitiges Vorhandensein von Methämoglobin (Hämiglobin) zurückzuführen zu sein, dessen Maximum im Rot bei 630 $m\mu$ liegt. Die beiden Maxima, welche Schumm bei 577 und 540 $m\mu$ fand, dürften durch Beimengungen von Oxyhämoglobin bedingt gewesen sein.

Das unterschiedliche Verhalten von Serumhämatin und Hämatalbumin

Heilmeyer⁵ führte die Abweichung der Absorptionskurve des im Serum gelösten Hämamins von der in wäßriger Lösung darauf zurück, daß Hämatin im Serum nicht frei, sondern gebunden an Proteine vorliegt. Fairley³ kam auf Grund spektrophotometrischer Messungen zu der Auffassung, daß sich das Hämatin nur mit dem Albumin verbindet. Fairley bezeichnete daher diese Verbindung als „Methämalbumin“, Keilin⁶ nannte sie „Hämatalbumin“ und Lemberg und Legge⁷ „Ferrihämalbumin“, um hervorzuheben, daß sie Eisen als Fe^{III} enthält. Die von Fairley, Keilin und anderen Autoren angegebene Absorptionskurve der Serumverbindung des Hämamins stimmt jedoch nicht mit derjenigen von Heilmeyer, die wir bestätigen können, überein. Nach Fairley liegen die Absorptionsmaxima des Methämalbumins bei 623, 540 und 500 $m\mu$, während im Serum gelöstes Hämatin Maxima bei 620, 525—530 und 495 $m\mu$ zeigt.

Schon papierelektrophoretische Versuche von Miller und Alling⁸ mit Plasma von Hunden, wonach Hämatin nicht nur mit dem Albumin, sondern auch mit α_1 -Globulin läuft, sowie Versuche von Fišer-Herman und Davorin⁹, nach denen sich der Farbstoff im menschlichen Serum auch mit α_2 -Globulin verbindet, wiesen darauf hin, daß die Abweichungen der Farbkurven von Serumhämatin und Hämatalbumin durch Verbindungen des Hämamins mit anderen Proteinen bedingt sind. Da wir auf papierelektrophoretischem Wege keine eindeutigen Ergebnisse erzielen konnten, versuchten wir die Aufklärung dieser Unterschiede durch Bestimmung der Absorptionskurven des Hämamins in folgenden Eiweißfraktionen*: α_1 -Glykoprotein, α_2 -Glykoprotein, β_1 -Globulin,

⁵ L. Heilmeyer, Medizinische Spektrophotometrie. Verl. Fischer, Jena 1933.

⁶ J. Keilin, Nature [London] **154**, 120 [1944].

⁷ R. Lemberg und J. W. Legge, Hematin Compounds and Blood Pigments. Interscience Publishers New York 1949.

⁸ L. L. Miller und E. W. Alling, J. exp. Med. **85**, 56 [1947].

⁹ M. Fišer-Herman und P. Davorin, Biochem. Z. **324**, 96 [1953].

* Die Eiweißfraktionen wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. E. Schultze, Behringwerke, Marburg (Lahn), überlassen, wofür wir auch an dieser Stelle ergebenst danken.

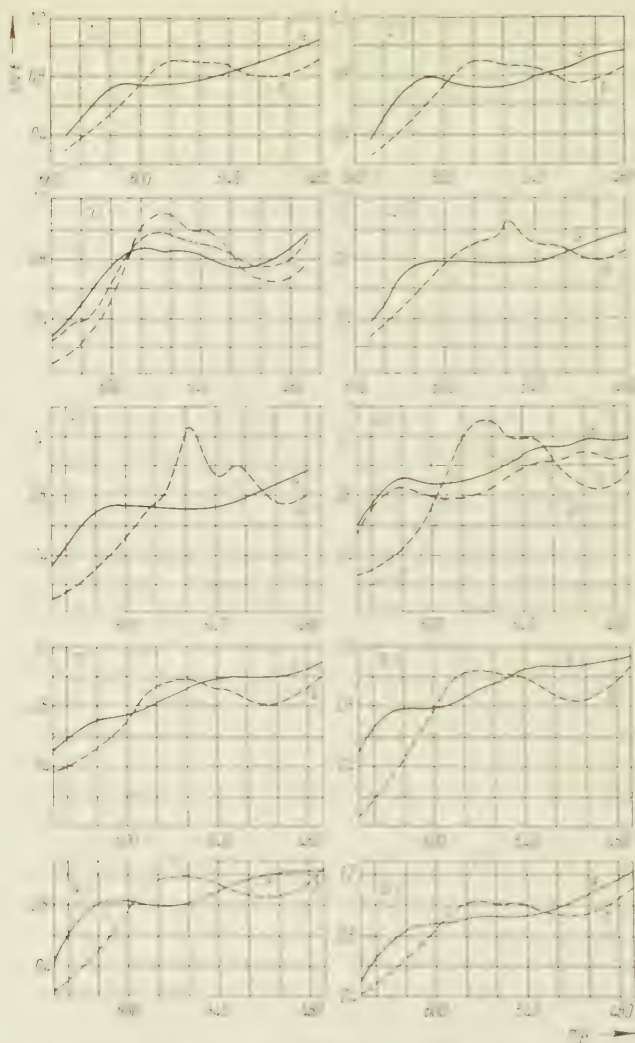


Abb. 1. a) In $n/10$ -NaOH gelöstes Hämatin in Phosphatpuffer (Sörensen) pH 7,8.

b) Dasselbe nach Reduktion mit $Na_2S_2O_4$.

Abb. 2. a) In $n/10$ -NaOH gelöstes Hämatin in Borsäure-Natriumcarbonat-Puffer, pH 11,0. b) Dasselbe nach Reduktion.

Abb. 3. Absorptionskurven des reduzierten Hämatins (Häm) bei pH 7,5: a) in serumfreier Phosphatpuffer-Lösung (—); b) in mäßig serumhaltiger (5–10%) Phosphatpuffer-Lösung (— · — · —); c) in reinem Serum (· — · — ·).

Abb. 4. a) In $n/10$ -NaOH gelöstes Hämatin in Glykoll-Natronlaugepuffer (Sörensen), pH 11,5, mit etwa 1% Serum; b) dasselbe nach Reduktion.

Abb. 5. Wie bei Abb. 4, jedoch bei pH 12,5.

γ -Globulin und Humanalbumin. Wegen des relativ flachen Verlaufs der Absorptionskurven des Hämatins in diesen Eiweißlösungen ermittelten wir stets zusätzlich den Absorptionsverlauf des Farbstoffs nach Reduktion mit Natriumdithionit. Hierbei entwickelt sich, wie an anderer Stelle näher ausgeführt wurde¹⁰, in schwach alkalischen Milieu ein Absorptionsspektrum, das von demjenigen des Hämochromogens abweicht.

Der Einfluß der Serumkonzentration und Wasserstoffionenkonzentration auf die Gestalt der Farbkurven

Die Ausprägung der Absorptionsspektren ist vom Eiweißgehalt, von der Eiweißart und vom p_H abhängig. So differieren, wie Abb. 3 zeigt, die Absorptionskurven des reduzierten Hämatins (Häm) je nach dem Serumgehalt beträchtlich. Während sich der Farbstoff in einer 1-proz. Serumlösung bei p_H 7–8 optisch wie in wäßriger Lösung verhält, nähert sich die Farbkurve mit zunehmender Serumkonzentration gestaltlich derjenigen, die das reduzierte Hämatin in reinem Serum aufweist. Auch vor der Reduktion sind Veränderungen zu finden, die sich — wie erwähnt — vor allem in einer Verschiebung des Maximums im Rot von 612 nach 620 $m\mu$ kundtun. Die p_H -Abhängigkeit der Farbkurven scheint mit der Beschaffenheit der Proteine (nativ oder denaturiert) verknüpft zu sein¹⁰. Wie die Abb. 4 u. 5 zeigen, bildet sich das Hämochromogenspektrum bei Verwendung frischen Serums erst im stark alkalischen Milieu aus. Unterhalb von p_H 10 liegt (nach Reduktion) das Spektrum des reduzierten Hämatins vor, mit zunehmender Alkalisierung tritt das Spektrum des Serumeiweißhämochromogens mehr und mehr hervor. Wegen der geringen Serumkonzentration (1%) gelangt es aber auch bei p_H 12,4 (Abb. 5) nicht voll zur Ausprägung.

Die Auffassung von Fairley, daß Hämatin nur mit dem Albumin Verbindungen eingeht, scheinen die sowohl vor als auch nach der Reduktion zum Verwechseln ähnlichen Farbkurven von Serumhämatin und Hämatinalbumin auf den ersten Blick zu bestätigen. Die Differenzen werden erst erkennbar, wenn man die Farbkurven übereinander zeichnet. Wie Abb. 6a und c zeigt, unterscheiden sich die Farbkurven vor der Reduktion im wesentlichen nur durch die Verschiebung der drei Maxima um 3–5 $m\mu$ *. Nach Reduktion (mit Natriumdithionit) sind etwas

Abb. 6. Gegenüberstellung von Serumhämatin: a) vor Reduktion; b) nach Reduktion und Hämatinalbumin: c) vor Reduktion; d) nach Reduktion.

Abb. 7. a) Hämatin in 1,5-proz. α_1 -Glykoproteinfraction (Behringwerke), p_H 7,5–8; Hämatinkonzentration etwa 0,1%; b) dasselbe nach Reduktion.

Abb. 8. a) Hämatin in 1,5-proz. α_2 -Glykoproteinfraction (Behringwerke), p_H 7,5–8; Hämatinkonzentration etwa 0,1%. b) Dasselbe nach Reduktion.

Abb. 9. a) Hämatin in 1,5-proz. β_1 -Globulinlösung (Behringwerke) p_H 7,5–8; Hämatinkonzentration etwa 0,1%. b) Dasselbe nach Reduktion.

Abb. 10. a) Hämatin in 4-proz. γ -Globulin-Lösung (Behringwerke). p_H 7,5–8; Hämatinkonzentration etwa 1%. b) Dasselbe nach Reduktion.

¹⁰ W. Schwerd, Dtsch. Z. gerichtl. Med. 46, 772 [1957].

* Es sei hier ausdrücklich vermerkt, daß bei der Messung der Absorptionskurven mit dem Spektralphotometer (Zeiß-Opton) stets Vergleichslösungen Verwendung fanden, die bis auf den Hämatinegehalt völlig gleichartig wie die Meßlösungen zusammengesetzt waren. Außerdem wurden nur die Meßergebnisse solcher Lösungen verwertet, die nicht nennenswert getrübt waren.

größere Unterschiede zu erkennen, wenn auch hier die Ähnlichkeit beträchtlich ist (Abb. 6 b und d). Die von uns wohl erstmals beschriebene Absorptionskurve des reduzierten Hämamins im Serum (b) erscheint gegenüber der des reduzierten Hämatalbumins (d) um 5–8 $m\mu$ violettwärts verschoben. Auch ihre Form ist eine etwas andere: Die erste Bande des reduzierten Serumhämamins ist deutlich breiter (typische Farbkurven!), ihr Maximum liegt bei 565 $m\mu$ und nicht bei 571 bis 573 $m\mu$ wie beim reduzierten Hämatalbumin.

Die in zahlreichen Messungen immer wieder zu findenden Unterschiede im optischen Verhalten von Serumhämatin und Hämatalbumin (Methämalbumin, Ferrihämalbumin) sind so deutlich, daß kein Zweifel daran bestehen kann, daß das Hämatin im Serum nicht als reine Albuminverbindung vorliegt.

Das Verhalten des Hämamins in verschiedenen Serumeiweißfraktionen

α_1 -Glykoproteinfraktion: Die Absorptionskurve des in dieser Serumfraktion gelösten Farbstoffes weicht sowohl von derjenigen in wäßriger Lösung als auch von der in reiner Albuminlösung deutlich ab (Abb. 7). Nach der Reduktion fehlt vor allem die sonst zu beobachtende leichte Einsenkung der Farbkurve bei 560–565 $m\mu$.

α_2 -Glykoproteinfraktion: Die Absorptionskurven (Abb. 8), ähnlich denen in α_1 -Fraktion, unterscheiden sich ebenfalls deutlich von denen des Farbstoffes in Wasser oder in Albuminlösung. Die Kurve des unreduzierten Farbstoffes ist profiliert als in α_1 -Glykoproteinlösung. Nach der Reduktion ist die Kurve des Farbstoffes insgesamt etwas stärker entwickelt als in der α_1 -Fraktion und als in wäßriger Lösung. Das Auffallendste ist wiederum ein Fehlen einer Einsenkung bei 560–565 $m\mu$.

β_1 -Globulinfraktion: Nach Beimischung von Hämatin wiederum ähnliche Befunde wie bei der α_2 -Fraktion (Abb. 9). Der erste Gipfel des unreduzierten Farbstoffes liegt jedoch näher bei 610 als bei 620 $m\mu$. Nach der Reduktion ist vor allem wieder das Fehlen der Einsenkung der Farbkurve bei 560–565 $m\mu$ beachtenswert.

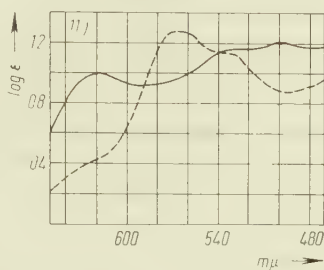
γ -Globulinfraktion (Abb. 10): Hier ergab sich keine eindeutige Abweichung der Farbkurven von denen des Hämamins in schwach alkalischen (p_H 7–10) wäßrigen Lösungen.

Aus diesen Befunden geht deutlich hervor, daß das Hämatin nicht nur mit dem Albumin, sondern auch mit anderen Serumproteinen reagiert. Wir erkennen bei den Farbkurven des Hämamins in Globulinlösungen Eigenschaften, die die Abweichungen der Farbkurven des Serumhämamins von denen des Hämatalbumins verdeutlichen. Das Fehlen einer Einsenkung der Absorptionskurven bei 560–565 $m\mu$ gibt offensichtlich Veranlassung zu der Verbreiterung des Gipfels des Serumhämamins im Vergleich zu dem des Hämatalbumins und zu einer Verlagerung des Maximums violettwärts. Der Abfall der Absorptionskurven

des reduzierten Hämatins in Globulinlösungen bei 540 $m\mu$ führt bei Gemischen mit Albumin, wie sie im Serum vorliegen, zu einer Verflachung des zweiten Gipfels des Hämatinalbumins.

Diese Feststellungen werden dadurch erhärtet, daß nach dem Zusatz von Hämatin zu einem Gemisch der Eiweißfraktionen, das etwa dem entsprach, wie es im Serum vorliegt, eine Absorptionskurve zu messen war, die weitgehend derjenigen des Serumhämatins glich (Abb. 11).

Abb. 11. a) Hämatin (Konzentration etwa 0,1%) in einem Gemisch aus Lösungen von α_1 -, α_2 -, β_1 -, γ -Globulinfraktionen und von Albumin (Behringwerke) (—); b) Dasselbe nach Reduktion mit Natriumdithionit (- - -)



Wir schließen aus diesen Befunden, daß die Abweichung der Absorptionskurven des Hämatins im Serum von denen dieses Farbstoffs in Albuminlösungen dadurch bedingt ist, daß der Farbstoff nicht nur mit Albumin, sondern auch mit Globulinen Verbindungen eingeht.

Zusammenfassung

Auf spektrophotometrischem Wege wird mit Hilfe von verschiedenen Eiweißfraktionen gezeigt, daß Hämatin im Serum nicht als reine Albuminverbindung vorliegt, sondern auch mit Globulinen Verbindungen eingeht.

Summary

It can be shown spectrophotometrically on various protein fractions that hematin is present in serum not solely as an albumin complex, but also as a globulin complex.

Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin, Bd. 46, S. 772—781 (1958)

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. WEINIG)

Studien über das Verhalten von Hämatin in alterndem Blutserum

Von

WOLFGANG SCHWERD

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. August 1957)

Das postmortale Verhalten der Blutfarbstoffderivate ist recht verschieden. Kohlenoxydhämoglobin ist bekanntlich sehr lange haltbar. Andere Hämoglobinabkömmlinge dagegen, wie z. B. Methämoglobin und Hämatin, sind zwar bei verschiedenen Krankheiten, insbesondere aber

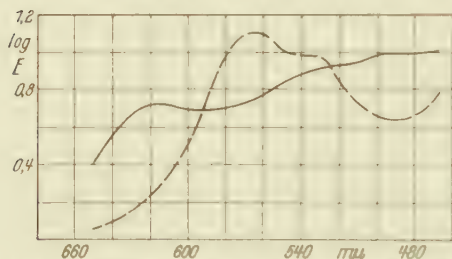


Abb. 1. Serumhämatin. In n/10 NaOH gelöstes Hämatin in frischem Serum, pH 7,3 (Streckung 20-fache Linie). Konzentration etwa 0,1 %. Gestrichelte Linie: Dasselbe nach Reduktion mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. (Typische Farbkurven)

bei allen Vergiftungen, die mit Blutzerfall einhergehen, schon intravital zu beobachten, sie treten aber auch bei Autolyse (DOLJANSKI und KOCH, FAIRLEY) und Fäulnis auf. Bei Untersuchungen über die Nachweisbarkeit des Hämatins sind wir der Frage nachgegangen, wie sich Hämatin im Blutserum verhält.

Hämatin geht, wie zuerst HEILMEYER feststellte, mit den Serumweißkörpern eine Verbindung ein und ändert dabei seine spektralen Eigenschaften. Nach unseren Beobachtungen verbindet sich dieser Farbstoff nicht nur mit dem Albumin, wie FAIRLEY u. a. annahmen, sondern auch mit Globulinen (SCHWERD). In weiteren Versuchen über das optische Verhalten des Hämatins im Blutserum zeigte sich nun, daß die Absorptionskurven sich in gealterten Serumproben anders verhalten als in frischen. In frischem Serum gelöstes Hämatin ergab folgenden Absorptionsverlauf (Abb. 1). Im roten Spektralteil ist eine relativ schwache Absorptionsbande mit Maximum bei 620 $m\mu$ vorhanden. Nach einem flachen Minimum im Gelbgrün nimmt die Absorption langsam zu, wobei sich zwei angedeutete Maxima bei 525—530 $m\mu$ und bei 495 $m\mu$ abzeichnen (Abb. 1, ausgezogene Linie).

Nach Reduktion (mit Natriumdithionit) fehlt eine stärkere Absorption im Rot, im Gelb steigt die Absorptionskurve an, bildet einen relativ breiten Gipfel mit Maximum bei $565\text{ m}\mu$, verläuft etwa von 545 bis $530\text{ m}\mu$ waagrecht und senkt sich dann bis zu einem Minimum bei $490\text{ m}\mu$, um erneut stark anzusteigen (Abb. 1, gestrichelte Linie).

Weiter rotwärts als 566 — $568\text{ m}\mu$ war das Maximum bei unseren Versuchen nie zu finden. Dagegen war es manchmal etwas violettwärts gegen $560\text{ m}\mu$ hin verschoben. Nach einiger Zeit stellte sich nun heraus, daß dies immer dann der Fall war, wenn Seren Verwendung fanden, die bereits einige Tage im Kühlschrank aufbewahrt waren, niemals dagegen bei ganz frischem Serum oder Plasma. Neben einer Verschiebung des Maximums waren regelmäßig auch gestaltliche Veränderungen der Farbkurven festzustellen, die jedoch nur nach Reduktion auffielen (Abb. 10). Zur Erklärung dieser gestaltlichen Veränderungen ist es erforderlich, den Absorptionsverlauf des Serumeiweißhämochromogens mit heranzuziehen und die Bedingungen zu besprechen, unter denen sich dieser Farbstoff entwickelt.

Die Hämochromogenbildung

Wie bereits HOPPE-SEYLER erkannte, entsteht bei der Reduktion von Hämatin nur dann Hämochromogen, wenn Eiweiß vorhanden ist. Spätere Untersuchungen (ANSON und MIRSKY u. a.) zeigten, daß an Stelle von Eiweiß auch andere stickstoffhaltige Körper wie Ammoniak, Amine, Aminosäuren, Hydrazinhydrat, Pyridin, Nicotin usw. treten können. (Bei eigenen Untersuchungen ergab sich allerdings, daß reinste Aminosäuren [Merck] mit Hämatin keine Verbindungen eingehen.)

Die neuerdings von FELIX geäußerte Meinung, daß alle Hämochromogene dasselbe Spektrum haben, trifft nicht zu. Ihre Spektren sind sich nur sehr ähnlich. Dies gilt besonders für die Eiweißhämochromogene, die sich unter sonst gleichen Bedingungen nur hinsichtlich der Intensität der Ausprägung der typischen Farbkurve unterscheiden, während die Lage der Absorptionsmaxima übereinstimmt. Dagegen differieren beispielsweise die Absorptionsmaxima des Serumhämochromogens im sichtbaren Licht je um $2,5\text{ m}\mu$ von denen des Ammoniakhämochromogens, wie schon ANSON und MIRSKY beobachteten.

Hämochromogen bildet sich bekanntlich nur im alkalischen Milieu. Wie aber oben am Beispiel des Hämatins in frischem Serum gezeigt wurde, tritt nach Reduktion mit Natriumdithionit nicht ohne weiteres ein Hämochromogenspektrum in Erscheinung. Zwischen p_H 7—10 entwickelt sich vielmehr, wie entsprechende Versuche ergaben, das beschriebene Spektrum des reduzierten Serumhämatins (Serumbäms), dem die charakteristischen Absorptionsbanden der Eiweißhämochromogene (bei 558 und $528\text{ m}\mu$) fehlen (Abb. 1, gestrichelte Linie). Durch starkes Alkalisieren ändert sich der Verlauf der Absorptionskurve. Es bildet sich das Absorptionsspektrum des Serumeiweißhämochromogens aus (Abb. 2, strichpunktierte Linie).

Die Hämochromogenspektren in verschiedenen Eiweißlösungen

Bei Untersuchungen über die Bindung des Hämatins an Serum-eiweißkörper, prüften wir auch die Hämochromogenbildung in den verschiedenen Eiweißfraktionen¹. Es wurde dabei in der Weise vorgegangen, daß zunächst die Absorptionsspektren nach Zusatz des in n/10 NaOH gelösten Farbstoffes zu der Eiweißlösung spektrophotometrisch (Spektralphotometer Zeiß-Opton) gemessen wurden. (Das p_H dieser Lösungen, welches jeweils überprüft wurde, lag zwischen 7,5

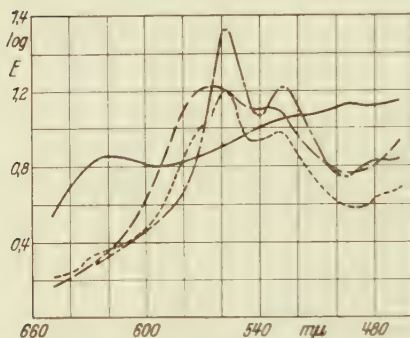


Abb. 2

Abb. 2. Serumhämatin. Ausgezogene und gestrichelte Linie wie in Abb. 1 (unreduzierter bzw. reduzierter Farbstoff). Strichpunktierte Linie: Reduzierter Farbstoff durch Zugabe von 2 Tropfen 10 %iger NaOH ml Serum stark alkalisiert. Punktierte Linie: Dasselbe mit 3 %iger HCl vorsichtig wieder angesäuert bis p_H 7,5–8. (Typische Farbkurven)

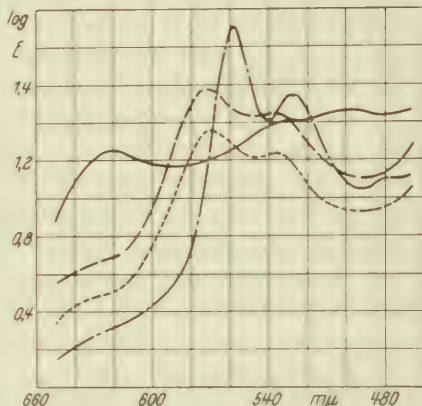


Abb. 3

Abb. 3. Hämatinalbumin. Ausgezogene Linie: In n/10 NaOH gelöster, unreduzierter, gestrichelte Linie: reduzierter Farbstoff in 1 %iger Humanalbumin-Lösung (Behringwerke). Konzentration etwa 0,1 %. p_H 7,5–8. Strichpunktierte Linie: Reduzierter Farbstoff durch Zugabe von 2 Tropfen 10 %iger NaOH ml Lösung stark alkalisiert. Punktierte Linie: Dasselbe mit 3 %iger HCl vorsichtig wieder angesäuert bis p_H 7,5–8. (Typische Farbkurven)

und 8.) Sodann wurde mit Natriumdithionit reduziert und die Farbkurve erneut ermittelt. Weitere spektrophotometrische Bestimmungen erfolgten nach dem Alkalisieren der Lösungen mit NaOH und schließlich nach Rückpuffern mit HCl bis p_H 7,5–8. Die vor dem Alkalisieren zu beobachtenden Absorptionsspektren und die hieraus zu ziehenden Schlüsse über die Bindung des Hämatins an Serum-eiweißkörper haben wir an anderer Stelle eingehend besprochen (SCHWERD). Hierbei wurde die Feststellung getroffen, daß Hämatin nicht nur mit Albumin, sondern auch mit Globulinen Verbindungen eingeht. Die bei stark alkalischer Reaktion sich entwickelnden Hämochromogenspektren der verschiedenen Eiweißkörper haben zwar, wie die Abb. 2–7 zeigen, die beiden

¹ Die Eiweißfraktionen wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. E. SCHULTZE, Behringwerke, Marburg a. d. Lahn, überlassen, wofür wir auch an dieser Stelle ergebenst danken.

Maxima an gleicher Stelle, doch unterscheiden sich die typischen Farbkurven hinsichtlich ihrer Intensität ganz erheblich voneinander¹. Während in α_2 - und β_1 -Globulinlösungen äußerst intensive Absorptionsspektren zustande kamen (Abb. 5 und 6), entwickelte sich in der γ -Globulinlösung ein Hämochromogenspektrum nur andeutungsweise (Abb. 7). Man ist daher versucht anzunehmen, daß γ -Globulin unter den gegebenen Umständen kein Hämochromogen bildet, daß vielmehr die

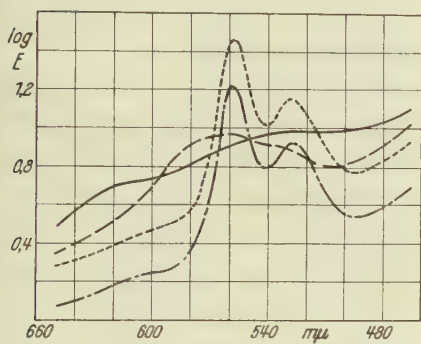


Abb. 4

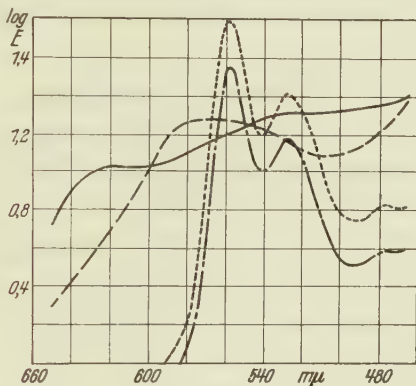


Abb. 5

Abb. 4. Hämatin in 1,5 %iger α_1 -Glykoproteinfraktion (Behringwerke) pH 7,5—8 (ausgezogene Linie). Hämatingkonzentration etwa 0,1 %. Gestrichelte Linie: Dasselbe nach Reduktion. Punktstrich Linie: Reduzierter Farbstoff durch Zugabe von 2 Tropfen 10 %iger NaOH/ml Lösung stark alkalisiert. Strichpunktstrich Linie: Dasselbe mit 3 %iger HCl vorsichtig wieder angesäuert bis pH 7,5—8. (Typische Farbkurven)

Abb. 5. Hämatin in 1,5 %iger α_2 -Glykoproteinfraktion (Behringwerke) pH 7,5—8 (ausgezogene Linie). Hämatingkonzentration etwa 0,1 %. Gestrichelte Linie: Dasselbe nach Reduktion. Punktstrich Linie: Reduzierter Farbstoff durch Zugabe von 2 Tropfen 10 %iger NaOH stark alkalisiert. Strichpunktstrich Linie: Dasselbe mit 3 %iger HCl vorsichtig wieder angesäuert bis pH 7,5—8. (Typische Farbkurven)

erhobenen Befunde durch geringe Verunreinigungen mit anderen Eiweißkörpern bedingt sind. Die Hämochromogene des Serums, des Albumins und der α_1 -Globulinfraktion nehmen hinsichtlich ihrer Ausprägung Zwischenstellungen ein².

¹ Da nur dann ein klares Bild darüber zu gewinnen ist, ob Absorptionsspektren identisch sind oder nicht, wenn sie nach einem Verfahren aufgezeichnet werden, das von Konzentrationseinflüssen unabhängig ist, haben wir die Absorptionskurven als „typische Farbkurven“ gezeichnet. Hierbei wird im Koordinatensystem der Logarithmus der Extinktion als Ordinate eingetragen. Die Konzentration kommt dann nur noch in der Höhenlage der Kurve zum Ausdruck, ist aber für die Form der Kurve nicht von Bedeutung (HEILMEYER).

² Es muß hier ausdrücklich angemerkt werden, daß bei der spektrophotometrischen Bestimmung der Absorptionskurven stets Vergleichslösungen verwendet wurden, die bis auf den Hämatingehalt völlig gleichartig wie die Meßlösungen zusammengesetzt waren. Außerdem wurden nur die Ergebnisse von Lösungen verwertet, die nicht nennenswert getrübt waren.

Es zeigt sich also, daß die Ausprägung der Hämochromogenspektren von der *Eiweißart* mit bestimmt wird. Auch andere Faktoren sind hierfür maßgebend. So wies bereits 1936 O. SCHMIDT darauf hin, daß die Bildung des Eiweißhämochromogens von der Serumbeschaffenheit abhängig ist. Er fand beispielsweise nur schwache Hämochromogenshatten, wenn er ungekochtes Serum an Stelle von Serum verwendete, das in $n/10$ NaOH gekocht war. Für die Unterschiede hat vielleicht

auch die Frage der Denaturierung des Eiweißes eine Rolle gespielt, worauf im folgenden eingegangen wird.

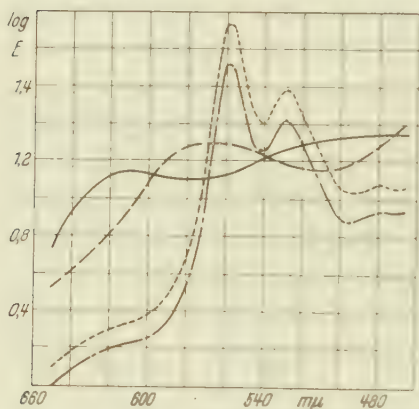


Abb. 6

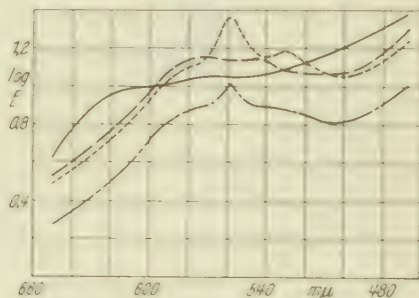


Abb. 7

Abb. 6. Hämatin in 1,5 %iger β_1 -Globulinlösung (Behringwerke) pH 7,5—8 (ausgezogene Linie). Hämatingkonzentration etwa 0,1 %. Gestrichelte Linie: Dasselbe nach Reduktion. Punktierte Linie: Reduzierter Farbstoff durch Zugabe von 2 Tropfen 10 %iger NaOH stark alkalisiert. Strichpunktierte Linie: Dasselbe mit 3 %iger HCl vorsichtig wieder angesäuert bis pH 7,5—8. (Typische Farbkurven)

Abb. 7. Hämatin in 4 %iger γ -Globulin-Lösung (Behringwerke) pH 7,5—8 (ausgezogene Linie). Hämatingkonzentration etwa 0,1 %. Gestrichelte Linie: Dasselbe nach Reduktion. Punktierte Linie: Reduzierter Farbstoff durch Zugabe von 2 Tropfen 10 %iger NaOH/ml Lösung stark alkalisiert. Strichpunktierte Linie: Dasselbe mit 3 %iger HCl vorsichtig wieder angesäuert bis pH 7,5—8. (Typische Farbkurven)

Das Verhalten verschiedener Hämochromogene bei Rückverschiebung des p_H -Wertes zum schwach alkalischen Milieu (p_H 7,5—8)

Ein interessantes Verhalten zeigen die Absorptionsspektren der verschiedenen Eiweißhämochromogene, wenn man die Lösungen durch vorsichtiges Zusetzen von 3 %iger Salzsäure wieder auf den Ausgangs- p_H -Wert zurückpuffert. Während das durch starkes Alkalisieren des reduzierten Hämatalbumins entstandene Hämochromogen sein optisches Verhalten beim Rückpuffern in der Weise ändert, daß das Spektrum des reduzierten Hämatalbumins praktisch vollständig wieder in Erscheinung tritt (Abb. 3), gelingt etwas Entsprechendes beim Serumhämochromogen nur unvollständig (vgl. Abb. 2) und bei den Hämochromogenen der α_1 -, α_2 - und β_1 -Globulinfraktion überhaupt nicht (vgl. Abb. 4—7; in diesen Zeichnungen sind die Absorptionskurven aus Grün-

den der Übersichtlichkeit etwas gegeneinander versetzt). Die durch Zusatz von Natronlauge zu Hämatin-eiweißgemischen entstandenen Veränderungen im optischen Verhalten (Hämochromogenbildung) sind also nur bei der Albuminverbindung reversibel, bei den Globulinverbindungen offensichtlich irreversibel.

Welche Veränderungen liegen diesem verschiedenartigen Verhalten verschiedener Eiweißkörper unter sonst gleichen Umständen zu-

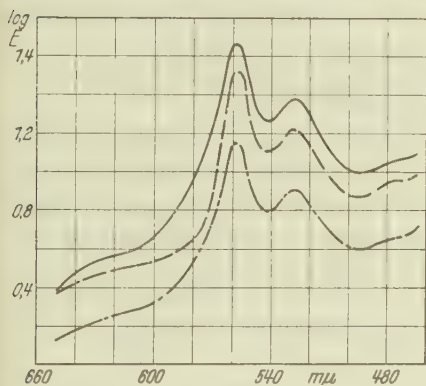


Abb. 8

Abb. 8. Hämatin in 1,5%iger β -Globulin-Lösung. Ausgezogene Linie: Globulinlösung 12 Std mit NaOH versetzt, dann bis p_H 7,5–8 angesäuert, Hämatin zugegeben und reduziert. Gestrichelte Linie: Dasselbe durch Zusatz von 2 Tropfen 10%iger NaOH/ml Lösung alkalisiert. Strichpunktierte Linie: Dasselbe wieder angesäuert bis p_H 7,5–8. (Typische Farbkurven)

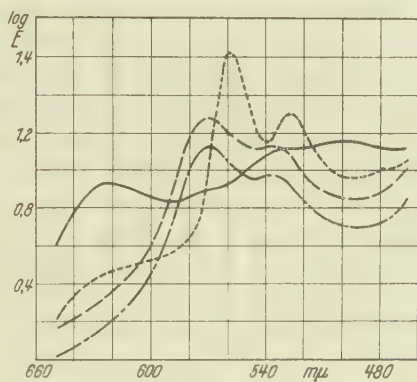


Abb. 9

Abb. 9. Hämatin in 4%iger Albumin-Lösung, die 10 Std lang mit 5 Tropfen 10%iger NaOH/ml Lösung versetzt, vor dem Hämatinzusatz jedoch durch Zugabe von 3%iger HCl auf einen p_H -Wert von 7,5–8 eingestellt wurde. Ausgezogene Linie: Farbstoff vor der Reduktion. Gestrichelte Linie: Farbstoff nach der Reduktion. Strichpunktierte Linie: Reduzierter Farbstoff nach Alkalisieren. Gestrichelte Linie: Zuerst Hämatinzusatz und vorsichtig bis zu einem p_H -Wert von 7,5–8 wieder angesäuert. (Typische Farbkurven)

grunde? Zunächst wird man daran denken müssen, daß die im stark alkalischen Milieu entstandenen Globulin-Hämochromogene stabilere Verbindungen als das Albumin-Hämochromogen sind. Folgende Versuche beweisen aber, daß diese Erklärung nicht stichhaltig ist. Alkalisiert man nämlich eine Globulinlösung und bringt sie vor dem Hämatinzusatz durch vorsichtigen Säurezusatz wieder auf einen p_H -Wert von 7,5–8, setzt nun Hämatin zu und reduziert, so bildet sich ein Hämochromogenspektrum von gleicher Intensität wie im stark alkalischen Milieu aus (Abb. 8). Nimmt man dagegen das gleiche mit Albumin vor, so entsteht nach wie vor das Spektrum des reduzierten Hämatalbumins und nicht das des Albuminhämochromogens. Selbst nach 10 Std langem Einwirken von Natronlauge auf eine Albuminlösung gelang es, nach dem Rückpuffern in den schwach alkalischen Bereich das Absorptionsspektrum des reduzierten Hämatalbumins fast vollständig wieder

zur Darstellung zu bringen (Abb. 9). Lediglich das 1. Maximum war um einen Betrag von etwa $2\text{ m}\mu$ violettwärts verschoben, was übrigens schon nach kurzfristigem Alkalisieren zu beobachten war (Abb. 3, punktierte Linie) und wahrscheinlich auf geringe Verunreinigungen mit anderen Eiweißfraktionen zurückzuführen ist. Erst wenn die mit Alkali versetzte Albuminlösung stark erhitzt wurde, entstanden Veränderungen, die nach Hämatinzusatz und Reduktion auch im schwach alkalischen Milieu zur Entwicklung des Albuminhämochromogenspektrums Anlaß gaben. In der Hitze kommt also eine tiefer greifende Veränderung des Albumins als beim bloßen Alkalisieren zustande, die unter den aufgezeigten Bedingungen *irreversibel* ist.

Es liegt nahe, diese Veränderungen als *Denaturierung* zu bezeichnen und zwischen reversibler und irreversibler Denaturierung zu unterscheiden. Dementsprechend ergibt sich eine Übereinstimmung mit Ausdrucksweisen in der Literatur, in der vielfach die Eiweißhämochromogene mit dem Beiwort „denaturiert“ bezeichnet werden (vgl. z. B. KERLIN, LEMBERG und LEGGE), ohne daß bisher auf den Einfluß des p_H -Wertes und der Eiweißqualität auf die Hämochromogenbildung und -beständigkeit näher eingegangen worden wäre.

Gemäß dieser Ausdrucksweise ist zu sagen, daß die Eiweißkörper im nativen Zustand bei schwach alkalischer Reaktion (unter p_H 10) mit reduziertem Hämatin (Häm) *kein* Hämochromogen bilden. Sie sind hierzu erst nach starkem Alkalisieren und dadurch bedingter, allenfalls reversibler (wie z. B. beim Albumin) Denaturierung fähig. Bei irreversibel denaturierten Eiweißkörpern besteht dagegen diese p_H -Abhängigkeit nicht mehr. Nunmehr erfolgt die Hämochromogenbildung schon im schwach alkalischen Milieu.

Das Zustandekommen eines Hämochromogenspektrums im schwach alkalischen Milieu (p_H 7–10) nach Zusatz von Hämatin zu einer Eiweißlösung und Reduktion mit Natriumdithionit spricht somit für das Vorliegen von denaturiertem Eiweiß.

Das Verhalten des Hämatins im alternden (autolysierenden und faulenden) Serum

Bei unseren Untersuchungen bestimmten wir, wie erwähnt, den Maximalpunkt des breiten Gipfels des reduzierten Serumbämatins nie weiter rotwärts als $566\text{--}568\text{ m}\mu$. Er war vielmehr manchmal etwas violettwärts gegen $560\text{ m}\mu$ hin verschoben. Nach einiger Zeit fiel auf, daß die Verschiebung des Maximums zum Violett hin nur bei Seren auftrat, die bereits einige Tage im Kühlschrank aufbewahrt worden waren, niemals dagegen bei ganz frischen Seren und frischem Plasma.

Die Gegenüberstellung der typischen Farbkurven des reduzierten Hämamins in diesen älteren Seren mit den im frischen Serum ergab außer Verlagerungen des Gipfelpunktes auch Veränderungen in der Form. Es würde zu weit gehen, alle möglichen Zwischenstadien aufzuzeigen, die beginnend mit ganz geringfügigen Verschiebungen des Maximalpunktes ohne sonstige nennenswerte gestaltliche Veränderungen der

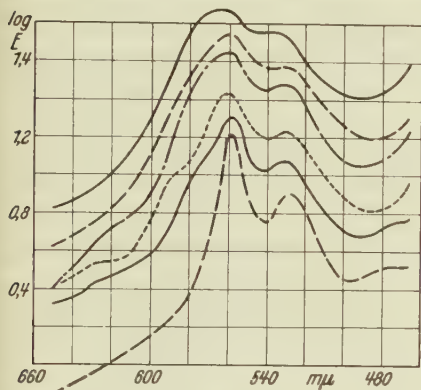


Abb. 10

Abb. 10. 1. Kurve (ausgezogene Linie oben): Reduziertes Serumhämatin. 2. Kurve (gestrichelte Linie oben): Reduziertes Hämatin in 6 Tage altem (klarem), überwiegend im Kühlschrank aufbewahrtm Serum. 3. Kurve (strichpunktierte Linie): Gleiches Serum wie Kurve 1, jedoch $3\frac{1}{2}$ Std lang mit NaOH versetzt, vor der Hämatinzugabe aber durch Ansäuern auf einen pH-Wert von 7,5–8 eingestellt. 4. Kurve (punktierte Linie): Reduziertes Hämatin in 11 Tage altem, vorwiegend im Kühlschrank aufbewahrtm Serum. 5. Kurve (ausgezogene Linie unten): Serum mit Hämatin versetzt, reduziert, alkalisiert und dann wieder angesäuert bis pH 7,5–8. 6. Kurve (gestrichelte Linie unten): Serumhämochromogen. (Typische Farbkurven)

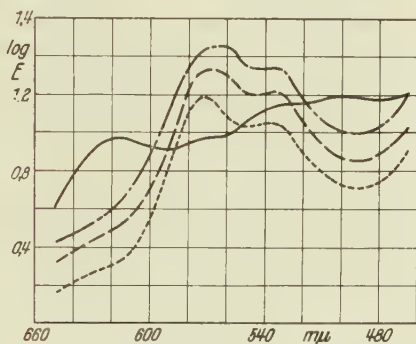


Abb. 11

Abb. 11. Hämatin in 10 Tage altem, bei Zimmertemperatur faulendem Serum (Konzentration etwa 0,1 %). Ausgezogene Linie: Vor Reduktion; gestrichelte Linie: Nach Reduktion mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. (Serum mußte vor dem Hämatinzusatz wegen Trübung zentrifugiert werden.) Zum Vergleich: Reduziertes Serumhämatin (strichpunktierte Linie) und reduziertes Hämatalbumin (punktierte Linie). (Typische Farbkurven)

Farbkurve über die in Abb. 10, Kurve 2 (gestrichelt) dargestellte Absorptionskurve eines 6 Tage alten Serums bis zu der in Abb. 10, Kurve 4 (punktiert) eingezeichneten Farbkurve eines 11 Tage alten Serums führen. Nach unseren im vorangegangenen Kapitel gemachten Ausführungen ergeben sich keine Schwierigkeiten hinsichtlich der Deutung dieser Befunde. Die Absorptionskurven entsprechen denen einer Mischung von reduziertem Serumhämatin und Serumhämochromogen. Da in schwach alkalischen Milieu, wie gezeigt wurde, nur denaturiertes Eiweiß mit reduziertem Hämatin unter Hämochromogenbildung reagiert, glauben wir den Schluß ziehen zu dürfen, daß die gestaltlichen Veränderungen der Absorptionskurven in älteren Seren Ausdruck einer partiellen Eiweißdenaturierung sind. Unsere Auffassung wird dadurch gestützt, daß es gelingt, durch Hintereinanderschalten von Cuvetten, die einerseits

Serumhämatin, andererseits Serumhämochromogen enthalten, gleichartige Absorptionskurven zur Darstellung zu bringen. Aber nicht nur das. Auch experimentell lassen sich entsprechende Farbkurven erhalten, wie dies beispielsweise Abb. 10, Kurve 3 (strichpunktiert) zeigt, die von einem Serum stammt, das $3\frac{1}{2}$ Std mit Natronlauge versetzt worden war, vor der Hämiazugabe aber durch vorsichtiges Zufügen von HCl wieder auf einen p_H -Wert von 7,5–8 eingestellt wurde. Als weiterer Vergleich ist in Abb. 10, Kurve 5 (ausgezogen) eine Farbkurve eingezeichnet, die von einem Serum stammt, das in stark alkalischem Milieu mit Hämatin versetzt, reduziert und vor der Messung wieder auf einen p_H -Wert von 7,5–8 gebracht wurde.

Bei der Alterung des Serums entstehen also ganz ähnliche Veränderungen der Serumeiweißkörper, wie wir sie bei der Alkalibehandlung experimentell erzeugen können. Da, wie gezeigt wurde, hierbei unter den gegebenen Umständen (Alkalieinwirkung bei Zimmertemperatur) nur die Globuline angegriffen werden, scheint uns bei der großen Ähnlichkeit der Absorptionskurven des gealterten und des alkalibehandelten Serums der Schluß gerechtfertigt, daß auch bei Alterung zunächst nur Veränderungen der Globuline zustande kommen. Sie führen bei reiner Autolyse bis zu Befunden, wie sie zu erhalten sind, wenn der gesamte Globulinbestand des Serums in Hämochromogen übergeführt ist (vgl. Abb. 10, Kurve 4 [punktiert] und 5 [ausgezogen]). Eine stärkere Verschiebung der Absorptionskurve des reduzierten Hämamins im Serum als zu der des Serumhämochromogens hin als Abb. 10, Kurve 4 haben wir unter autolytischen Bedingungen nicht gefunden.

Wurde Serum bei Zimmertemperatur der *Fallos* ausgesetzt, so ergaben sich zunächst Absorptionskurven wie bei Autolyse des Serums. Später trübte sich das Serum und konnte erst nach hochtourigem Zentrifugieren zur spektrophotometrischen Messung verwendet werden. Überraschenderweise war nun nach Hämatinzusatz und Reduktion nicht eine Verschiebung der Absorptionsmaxima nach rechts zum violetten Ende des Spektrums hin, sondern im Gegenteil nach links eingetreten (vgl. Abb. 11, gestrichelte Kurve). Das Maximum lag bei 568 bis 570 $m\mu$, der Gipfel war im ganzen etwas schlanker als der des reduzierten Serumhämamins und bei 530 $m\mu$ zeichnete sich ein zweites flaches Maximum ab. Gestaltlich war keine Annäherung an das Hämochromogenspektrum zu finden wie bei den Versuchen mit autolyisiertem Serum, sondern vielmehr eine solche an das des reduzierten Hämatalbumins (vgl. Abb. 11, punktierte Linie). Auch die Farbkurve des nicht reduzierten Hämamins war in faulem Serum ähnlich der des Hämatalbumins. Das 1. Maximum lag zwar noch bei 620 $m\mu$, das 2. und 3. Maximum war dagegen etwas rotwärts verschoben (530 und 500 $m\mu$ — vgl. Abb. 11, ausgezogene Linie).

Dieses Verhalten des Hämatins im Serum läßt sich damit erklären, daß bei der Fäulnis des Serums die denaturierten Globuline teilweise zerstört wurden. Das Serumalbumin scheint somit ebenso wie gegen den Einfluß von Alkali auch gegen Fäulniseinflüsse resistenter als die Serumglobuline zu sein.

Zusammenfassung

Beim Zusammenbringen von reduziertem Hämatin mit Serumeiweißkörpern entwickeln sich im schwach alkalischen Milieu (p_H 7—10) nur dann Hämochromogenspektren, wenn die Eiweißkörper denaturiert sind. Globuline sind leichter denaturierbar als Albumine. Die Ausprägung der Hämochromogenspektren bei Darstellung der typischen Farbkurven hängt von der Natur des Eiweißes ab. γ -Globulin geht mit Hämatin keine sichere Verbindung ein.

Die Absorptionskurven des reduzierten Hämatins im autolysierenden Serum entsprachen denen einer Mischung von reduziertem Serumhämatin und Serumhämochromogen, was auf eine frühzeitige Denaturierung der Globulinanteile des Serums zurückgeführt wird. Faulende Seren lassen sich wegen Trübungen erst nach Zentrifugieren spektrophotometrisch untersuchen und zeigen dann mit reduziertem Hämatin Absorptionskurven, die derjenigen des reduzierten Hämatinalbumins ähnlich sind.

Literatur

ANSON, M. L., u. A. E. MIRSKY: On haemochromogen and the relation of protein to the properties of the haemoglobin molecule. *J. of Physiol.* **60**, 50 (1925).
DOLJANSKI, L., u. O. KOCH: Das Blutserum als hämoglobintoxischer Faktor. *Virchows Arch.* **219**, 401 (1933). — FAIRLEY, N. H.: The spontaneous disintegration of certain blood pigments, with special reference to methaemalbumin formation. *Brit. J. Exper. Path.* **21**, 231 (1940). — FELIX, K.: In *Physiologische Chemie von FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ*, Bd. II, 1a, S. 517. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954. — HEILMEYER, L.: *Medizinische Spektrophotometrie*. Jena 1933. — KEILIN, J.: Reaction of human serum albumin with haematin and haem. *Nature (Lond.)* **154**, 120 (1944). — LEMBERG, R., u. J. W. LEGGE: *Hematin compounds and blood pigments*. New York 1949. — SCHMIDT, O.: Untersuchungen über Kohlenoxyd-Hämochromogene. *Dtsch. Z. gerichtl. Med.* **27**, 81 (1937). — SCHWERD, W.: Die Bindung des Hämatins an Bleiweißkörper. Erscheint in *Z. physiol. Chem.*

Priv.-Doz. Dr. W. SCHWERD, Erlangen,
Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

